581.23
B91
PRO SCIENTIA ATQUE SALUTE POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
Special Book Fund
1909
September 1897
R. W. Gibson, Inv.

DIE WURZELPILZE DER ORCHIDEEN

IHRE KULTUR UND IHR LEBEN IN DER PFLANZE

VON

Dr. HANS BURGEFF

ASSISTENT AM BOTANISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT JENA

MIT 3 TAFELN UND 38 ABBILDUNGEN IM TEXT

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

1909

Die Transpiration der Pflanzen. Eine physiologische Monographie. Von Dr. **Alfred Burgerstein**, a. o. Univ.-Prof. in Wien. 1904. Preis: 7 Mark 50 Pf.

Biochemie der Pflanzen. Von Dr. phil. et med. **Friedrich Czapek**, o. ö. Prof. der Botanik in Prag (jetzt in Czernowitz). Zwei Bände. 1904/05. Preis: 39 Mark, geb. 41 Mark 50 Pf.

Inhalt: Geschichtliche Einleitung. Allgemeiner Teil. Spezieller Teil: Der Kohlenhydratstoffwechsel der Pilze. — Der Kohlenhydratstoffwechsel von Samen und anderen Pflanzenorganen. — Der Eiweißstoffwechsel der Pilze und Bakterien. — Der Eiweißstoffwechsel der Samen und anderer Pflanzenorgane. — Die stickstoffhaltigen Endprodukte des pflanzlichen Stoffwechsels. — Die Sauerstoffaufnahme. — Stickstoffreie Endprodukte des Stoffwechsels. — Die Mineralstoffe im pflanzlichen Stoffwechsel.

Die Theorie der direkten Anpassung und ihre Bedeutung für das Anpassungs- und Deszendenzproblem. Versuch einer methodologischen Kritik des Erklärungsprinzipes und der botanischen Tatsachen des Lamarckismus. Von Dr. phil. **Carl Detto**, Assistent am botanischen Institut der Universität Jena. Mit 17 Abbildungen im Text. 1904. Preis: 4 Mark.

Biologische und morphologische Untersuchungen über Wasser- und Sumpfgewächse. Von Prof. Dr. **Hugo Glück** in Heidelberg. Erster Teil: Die Lebensgeschichte der europäischen Alismaceen. Mit 25 Textfiguren und 7 lithographischen Doppeltafeln. 1905. Preis: 20 Mark. — Zweiter Teil: Untersuchungen über die mitteleuropäischen Utricularia-Arten; über die Turionenbildung der Utricularia-Arten; über die Turionenbildung bei Wasserpflanzen, sowie über Ceratophyllum. Mit 28 Textfiguren und 6 lithographierten Doppeltafeln. 1905. Preis: 18 Mark.

Über Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien. Ein Beitrag zur Beleuchtung schwebender Selektionsfragen. Von **W. Johannsen**, Prof. der Pflanzenphysiologie an der Kgl. dänischen landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen. 1903. Preis: 1 Mark 50 Pf.

Inhalt: Zweck der Untersuchung. Samengröße der Bohnen. Die relative Breite der Bohnen. Schartigkeit der Gerste. Zusammenfassung und Rückblick.

Wiener landwirtschaftliche Zeitung Nr. 85 vom 24. Okt. 1903:

Das kleine, aber inhaltreiche Werk stellt vor allem einen hochbedeutsamen Fortschritt in der Lehre von der Zuchtwahl oder Selektion dar . . .

Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Von Dr. **Ludwig Jost**, a. o. Prof. an der Universität Straßburg. Zweite Auflage. Preis: 14 Mark, geb. 16 Mark.

Flora, 1904. Bd. 93, H. 2 sagt über die 1. Auflage:

. . . Die Darstellung ist klar, kritisch und reichhaltig und oft durch historische Rückblicke belebt. Die Jost'schen Vorlesungen werden deshalb als eine treffliche Einführung in das Studium der Pflanzenphysiologie begrüßt werden. Auch für Berufsbotaniker ist das Buch wertvoll durch die eingehende Berücksichtigung und Diskussionen, welche die neuere pflanzenphysiologische Literatur in ihm gefunden hat. Solche orientierende Darstellungen sind ja um so notwendiger, je mehr die Entwicklung der Botanik es unmöglich macht, in allen ihren Gebieten die Literatur zu verfolgen, besonders aber in der Physiologie, welche die Grundlage für alle anderen Teile der Botanik darstellt.

Lehrbuch der Pharmakognosie des Pflanzenreiches. Für Hochschulen und zum Selbstunterricht. Mit Rücksicht auf das neue deutsche Arzneibuch. Von Dr. **George Karsten**, a. o. Prof. der Botanik a. d. Universität Bonn. Mit 528 Abbildungen im Text. 1903. Preis: 6 Mark, geb. 7 Mark.

Willkürliche Entwickelungsänderungen bei Pflanzen. Ein Beitrag zur Physiologie der Entwickelung. Von Dr. **Georg Klebs**, Prof. in Halle. Mit 28 Abbildungen im Text. 1903. Preis: 4 Mark.

DIE WURZELPILZE DER ORCHIDEEN

IHRE KULTUR UND IHR LEBEN IN DER PFLANZE

VON

DR. HANS BURGEFF

ASSISTENT AM BOTANISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT JENA

MIT 3 TAFELN UND 38 ABBILDUNGEN IM TEXT

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

1909

QL66
.A1d
B863

Alle Rechte vorbehalten.

Weimar — Druck von R. Wagner Sohn.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Vorwort 1

Zur Theorie der Symbiose 3

I. Die Pilze in Unabhängigkeit von der Pflanze 8

A. Die Kultur der Orchideenpilze 8

Die Methode 10

B. Entwicklungsgeschichte und Systematik 12

Allgemeine Charaktere 12

Verschiedene Formen 16

C. Der Stoffwechsel 27

1. Die Aufnahme der Kohlenhydrate 27

2. Die Aufnahme des Stickstoffs 33

3. Die Produkte des Stoffwechsels 38

D. Die Wirkung physikalisch-chemischer Faktoren auf die Entwicklung 41

1. Das Sauerstoffbedürfnis 41

2. Die Bedingungen der Sporenbildung 42

Resüme 45

II. Pilz und Pflanze 47

A. Die Keimpflanzen der Orchideen und ihr Verhältnis zum Wurzelpilz 48

1. Einheimische Orchideen 48

2. Exotische Orchideen 54

B. Die Synthese der Symbiose 55

1. Bernards Methode 55

2. Bernards Experimente 56

3. Unsere Keimungsexperimente 62

a) Epidendrum 63

b) Laelio-Cattleya 69

c) Saphrophytische Keimung 77

d) Ernährungsphysiologische Experimente 83

Seite

e) Die Wirkung von Infektionen des Substrates durch rein saprophytische Pilze und Bakterien auf ältere Keimlinge und ihr Erfolg 84
f) Die Ergebnisse von Infektionen der Laelio-Cattleya-samen mit 17 verschiedenen Wurzelpilzen 88
g) Die Frage der Degeneration des Wurzelpilzes . . . 93
C. Die intrazellulären Vorgänge in der erwachsenen Pflanze 95
1. Die neottioide Mycorrhiza 96
a) Neottia nidus avis 96
b) Ophrydinae 101
α) Platanthera chlorantha 101
β) Bemerkungen über Abweichungen vom beschriebenen Typus bei anderen Ophrydeen 118
γ) Tatsachen, Experimente und Schlüsse bei der Emigration des Wurzelpilzes 121
c) Neottinae 126
d) Phajinae 131
e) Die Epiphyten 134
2. Die koralloide Mycorrhiza 138
3. Sporangiolenpilze 143
4. Ectotrophe Mycorrhiza 145
5. Zusammenstellung der verschiedenen Mycorrhizaformen 146
D. Die Existenzbedingungen der Orchideen in ihrer Beziehung zum Wurzelpilz 147
1. Samenbiologie 148
2. Homologien bei den Keimpflanzen 167
3. Rhizomorchideen 168
4. Ophrydeen 173
5. Epiphyten 177
E. Versuche zur Erklärung des biologischen Verhältnisses zwischen Orchidee und Pilz 179
1. Die Frage nach dem Vorhandensein einer mutualistischen Symbiose 180
2. Die stofflichen Beziehungen zwischen den Komponenten 184
a) Die Aufnahme der Nährsalze 186
b) Die Assimilation des Stickstoffes 195
c) Die Aufnahme der Kohlenhydrate 200
d) Die enzymatische Qualität der Wurzelpilze und ihre mögliche Bedeutung für die Pflanze 203
Anhang 208
Literaturverzeichnis 216

Vorwort.

Die Frage nach der Bedeutung der Pilzsymbiose der höheren Gewächse ist heute noch weit von ihrer definitiven Lösung entfernt. Einmal trägt hieran die Schuld die weite Verbreitung und Formenmannigfaltigkeit der Erscheinung, die noch keinen genauen Überblick gestattet; zum anderen unsere noch große Unkenntnis auf der physiologischen Seite, insbesondere der chemischen Umsetzungen der organischen Stoffe im Boden und ihres Verhältnisses zu den Mikroorganismen und höheren Pflanzen. Als wir näher in die Frage einzudringen versuchten und das gesamte Gebiet einer zusammenfassenden Behandlung unterziehen wollten, bemerkten wir klaffende Lücken, die uns zwangen, uns auf die am besten untersuchte Gruppe der Orchideenmycorrhiza zu beschränken. Zwar sind die Lücken auch hier vorhanden, doch liegen dafür an anderen Stellen Untersuchungen über denselben Gegenstand von verschiedenen Forschern und verschiedenen Gesichtspunkten vor, die uns als Stützpunkte bei der Überbrückung unsicherer Pfade dienen können.

Verschiedene Disziplinen der Botanik arbeiteten zusammen an der Ergründung der Probleme. Eine kritische Zusammenstellung der Resultate war somit nur durch ein wenig neue Orientierungsarbeit auf jedem Gebiete möglich. Es läßt sich erst durch praktische Kenntnis der verschiedenen auf das einzelne Objekt angewandten Methoden das Resultat gewisser-

maßen mit den Augen der früheren Beobachter erblicken und dem Allgemeinbild richtig einverleiben. Dieser Genese entspricht die häufig wenig vollständige Ausführung der Experimente in dieser Arbeit. Sie ist vielleicht mehr dazu geschaffen, Lücken aufzudecken, als solche auszufüllen. Möge daher ihre Wirkung eine solche sein, daß sie ihre Mängel entschuldigt.

Zur Theorie der Symbiose.

Das Wort Symbiose bedeutet zunächst ganz allgemein das regelmäßige Zusammenvorkommen von Lebewesen unter denselben äußeren Faktoren.

Das Zusammenvorkommen von Organismen kann mittelbar oder unmittelbar gedacht werden.

Im mittelbaren Zusammenleben befinden sich Organismen, die derselben Faktorensumme der Außenwelt mehr oder weniger gut angepaßt, in ein Verhältnis der Konkurrenz treten, einer Konkurrenz, bei der die unwillkürliche Veränderung der äußeren Faktoren für den einzelnen Organismus die Waffe bildet. Es herrscht der Kampf aller Individuen gegen alle, ohne Rücksicht auf die eigene Art. Es erfolgt eine äußere Regulierung: unter gleichen äußeren Faktoren sind verschiedene innere (d. s. die von den Individuen veränderten) vorhanden, die die Normalziffer jeder Art bestimmen. In dies Verhältnis gehören alle Gemeinschaften von Organismen, die unter gleichen klimatischen und geognostischen Faktoren gedeihen.

In die engere Beziehung des unmittelbaren Zusammenlebens, der de Bary'schen Symbiose, gehören alle Fälle, in denen Organismen eine direkte körperliche Verbindung eingehen, die Fälle des Parasitismus und der mutualistischen Symbiose.

Daß die letztere als Spezialfall des Parasitismus gefaßt werden kann, zeigt folgende Überlegung:

Der echte Parasitismus besteht darin, daß ein Organismus Bestandteile anderer Lebewesen seiner „Wirte" aufnimmt und

zu seinem Gedeihen verwertet. Hierbei kann die Individualität (Leben und Fortpflanzungsmöglichkeit) des Wirtes, wenn dieser stark geschädigt wird, verloren gehen. Der Parasitismus ist ein kteinotropher.

Dieser Fall des kteinotrophen Parasitismus ist der extreme, er setzt eine genügend große Zahl von Opfern voraus; ist somit von dieser abhängig.

Geht der Parasitismus einen Schritt zurück, wird er fakultativ kteinotroph, begnügt er sich z. B. mit weniger wichtigen oder regenerationsfähigen Teilen seiner Opfer, durch deren Beraubung jene zu Grunde gehen können aber nicht müssen, so wird er seine Existenzbedingungen in einer relativ geringeren Zahl von Opfern finden können, er wird weniger abhängig sein.

In diesem Falle sind die Voraussetzungen für die Entstehung der mutualistischen Symbiose gegeben.

Tritt nämlich bei dem fakultativ kteinotrophen Parasitismus eine Regulierung ein, die verhindert, daß das lebende Substrat überhaupt getötet wird, so ist die Symbiose im engsten Sinne, der Mutualismus, entstanden.

Die Regulierung ist nur dadurch möglich, daß der aktive Symbiont den passiven in irgend einer Weise unterstützt, ihm und sich selbst damit die Existenzmöglichkeit sichert, und zwar die Existenzmöglichkeit unter anderen Bedingungen, einer anderen Faktorensumme, als unter der jeder einzelne Symbiont in seinem ursprünglichen Zustand als Parasit oder Opfer lebte. Sowie die Selektion eingesetzt hat, wird auch der passive Symbiont Einrichtungen bekommen, die dem aktiven das Eindringen erleichtern, es wird Korrelation zwischen beiden eintreten.

Symbiose im engsten Sinne ist das Verhältnis zweier Organismen also dann, wenn jeder der beiden Symbionten den anderen in irgend einer Weise unterstützt, sei es auch nur, daß er ihn fähig macht, unter anderen Faktoren zu leben.

Die beiden Organismen bilden nach der Vereinigung einen neuen Organismus, der als einheitlich zu betrachten ist und unter neuen Bedingungen den Kampf ums Dasein aufnimmt.

Elenkin (96) hat den Zustand der mutualistischen Symbiose in Form der Wage als Gleichgewicht zwischen den Wagschalen symbolisiert. Diese Gleichgewichtsstellung ist aber seiner Ansicht nach in der Natur äußerst selten verwirklicht, und zwar deshalb, weil die beiden Symbionten verschieden auf die äußeren Faktoren reagieren. Hören wir ihn selbst:

„Wenn man sogar zugäbe, daß in einem Zeitpunkt des gemeinsamen Lebens der beiden Symbionten die äußeren Faktoren für sie gleich günstig sein könnten (in der Bedeutung des Mutualismus), so wird doch bei allen weiteren Veränderungen der chemisch-physikalischen Faktoren die Energie des Lebens der beiden Komponenten der Symbiose in verschiedener Weise auftreten, die von individuellen Arten- und Klasseneigenschaften abhängig sein wird. Bei diesen Bedingungen muß man annehmen, daß einer von den Symbionten sich in günstigeren Beziehungen zu den äußeren Faktoren befinden wird, als der andere. Hieraus folgt ganz natürlich der Schluß, daß einer der Symbionten den anderen unterdrücken und sogar auf seine Kosten leben wird.

Wie meine Beobachtungen an den Flechten und die anderer Autoren an anderen Fällen von Symbiosen zeigen, lassen sich tatsächlich immer nur Fälle von parasitischer oder saprophytischer Ernährung eines Symbionten auf Kosten des anderen beobachten, doch nie Mutualismus.

Die Beziehungen kann man in Form der Wage symbolisieren, deren Wagebalken sehr selten in horizontaler Lage (Mutualismus) sind, sondern gewöhnlich nach einer oder der anderen Seite schwanken werden, indem sie verschiedene Winkel, α und β, mit den Horizontalen bilden. Wenn diese Winkel eine gewisse Größe überschreiten (die Größe ist für

jeden Fall der Symbiose verschieden), so erfolgt der Tod eines Symbionten. Bei den Flechten befinden sich die normalen Schwankungen als erbliche Eigenschaften in den Grenzen des Winkels β, d. h. die Wagschale a, das Symbol der Gonidien hebt sich, und die Wagschale b, Symbol des Pilzes, sinkt nieder; in dem Leben der Flechten lassen sich jedoch Momente beobachten, in denen sich die Algen in vortrefflichem Zustand befinden (z. B. bei der Bildung von Soredien), und dann tritt zeitweiliges Schwanken in den Grenzen des Winkels α ein, wenn die Grenzen des Winkels α überschritten werden, so zeigt sich volle Desorganisierung verbunden mit dem Tode des Pilzes, während die Algen als selbständige Organismen befreit werden. Wenn dagegen die Grenzen des Winkels β überschritten werden, so vollzieht sich ein vollständiges Absterben der Algen mit nachfolgendem Tode des Pilzes wegen Mangel an Nahrung. Beide Fälle sind in der Natur nicht selten."

Nach unserer Ansicht ist die Frage, wie groß der Winkel α oder β in diesem oder jenem Falle der Symbiose ist, nur zu entscheiden, wenn man nachweist, wie viel besser der eine oder der andere der Komponenten außerhalb der Symbiose gedeiht, als in derselben; und zwar muß dieser Beweis unter der gleichen Summe der Faktoren geführt werden, unter denen das Doppelwesen normal gedieh. Bei den Flechten soll nach Elenkin die Wagschale a, das Symbol der Gonidien, meist hoch, die Wagschale b, das des Pilzes, tief stehen, die Schwankungen sollen innerhalb des Winkels β vor sich gehen. Gut, Elenkin kultiviere auf demselben trockenen Felsen, an demselben Baumstamm, wo die Flechte saß, den Pilz und die Alge allein. Gedeihen Alge und Pilz dort überhaupt, jedes für sich und eines besser, als in der Symbiose, dann mag der Wagebalken geneigt stehen und die Elenkin'sche Kritik des Mutualismus eine berechtigte sein. Nun wächst aber der Pilz überhaupt nicht, die Alge nur unter anderen Bedingungen als denen der Flechte.

weil ihr z. B. am trockenen Standort das Wasser fehlt, am feuchten das Substrat zur reichlichen Entwicklung. Die Algen im Pilz und die Angehörigen derselben Spezies im Freien sind biologisch heterogene Begriffe, ein Körperteil eines Wesens und ein Körper eines anderen.

Nach unserer vorherigen Ausführung ist die Symbiose in dem Augenblick gebildet, in dem die Regulierung des Parasitismus eintritt, die Existenz beider Komponenten ist damit gesichert und die Frage nach dem Stand des Wagebalkens kann nur die Antwort geben: Gleichgewicht.

Der Fehler, den Elenkin macht, liegt, wie aus dem Flechtenbeispiel folgt, darin, daß er die Faktoren für die Flechte als variierend ansieht, während sich diese dort, wo sie gut gedeiht, unter konstanten oder wenigstens in konstanten Grenzen variierenden Faktoren, unserer Faktorensumme, befindet.

Die Frage, was und wieviel davon die beiden Komponenten von einander beziehen, ist für die Betrachtung der Symbiose als solche überhaupt unberechtigt, bezieht doch jede genug, sich mit der anderen einen Standort zu erkämpfen, der ihr vordem verschlossen war. Betrachtet man freilich das Doppelwesen in einem Ausnahmefall, unter nicht gewohnten Faktoren, dann kann es sich ereignen, daß die Wage sich nach einer Seite neigt, und die Überlegung Elenkins tritt voll und ganz in ihr Recht. Der Zeiger der Wage kann die kritische Marke überschreiten und den Tod eines oder beider Symbionten besiegeln. Dies wird jedoch in der Natur nur als Ausnahme eintreten, der am häufigsten verwirklichte Zustand ist der Mutualismus, für den wir das Wort Symbiose, in engster Beziehung, in dieser Schrift gebrauchen wollen.

I. Der Pilz in Unabhängigkeit von der Pflanze.

A. Die Kultur der Orchideenpilze.

Schon einige von den Forschern, die sich zuerst mit der Frage nach der Art der in den Orchideenwurzeln lebenden Pilze beschäftigt haben, haben versucht, sie in Kultur zu erhalten. Wahrlich (86), Chodat und Lendner (98), Bernard (02), fanden Fusarium-Arten. Eine Kritik dieser und anderer Arbeiten ähnlichen Inhalts verdanken wir Gallaud (94); er zeigte durch exakt angestellte Versuche, daß Fusarium nicht erschien, wenn man mit genügenden Vorsichtsmaßregeln arbeitete.

Noel Bernard ist es nun im Jahre 1903 gelungen, Pilze zu kultivieren, die Samen tropischer Orchideen zur Entwicklung brachten, und sich somit als die richtigen Endophyten erwiesen.

Die Synthese der Symbiose von Pflanze und Pilz war damit vollendet.

Bernard (04) verfuhr folgendermaßen: Ausschnitte aus Wurzeln tropischer Orchideen legte er auf eine Gelatine, die 5 Proz. Salep enthielt. Es wuchsen eine Anzahl von Pilzen, die er, rein kultiviert, in Gefäßen mit Salepdekokt auf Watte mit den aseptisch der Kapsel entnommenen Samen einer tropischen Orchidee (Cattleya Mossiae×Laelia purpurata) zusammenbrachte, und so auf ihre Wirksamkeit prüfte. Er erhielt zunächst drei Pilze, von Cattleya, Cypripedium und Spiranthes. Die Samen von Cattleya, Cypripedium, verschiedener Bastarde

der Gattungen Cattleya, Laelia und Brassavola, sogar die von Bletilla hyacinthina keimten mit allen dreien. Der damals von Bernard gezogene Schluß, es handele sich hier um einen kosmopoliten Endophyten, lag nahe.

Bernard beschreibt seinen Pilz etwa folgendermaßen: Der Pilz besitzt ein hyalines Mycel von etwa 2—3 μ Durchmesser, das in den Pflanzen eine größere Dicke erreicht. Hyaline, eiförmige Sporen werden zu Ketten vereinigt am Mycel oder am Ende eines kurzen Trägers gebildet. Sie messen im Durchmesser 9—12 μ. Auf einer Textabbildung zeigt uns Bernard die racemös verzweigten Sporenketten, die leicht in ihre Glieder zerfallen sollen. Er stellte den Pilz zunächst mit aller Reserve zu der von ihm nicht einheitlich gefundenen Gattung Oospora. Die Beschreibung der Entwicklung und des physiologischen Verhaltens des Pilzes ist kurz folgende: Sein Wachstum ist stets ein langsames und wenig üppiges. Auf flüssigem Substrat bildet sich zunächst eine untergetauchte, schwer zerteilbare Flocke; darauf eine Decke auf der Flüssigkeit und darüber an der Wand des Glases, die die Hyphen erklettern, ein lockerer Überzug. Nach einigen Wochen werden auf dem Substrat kriechende Sporen angelegt.

Der Pilz scheint sehr polyphag, er gedeiht auf Fleischbouillon, Salep, Kartoffeln, Karotten, Orchideenknollen und Gelatine.

In zwei späteren Arbeiten (05, 06) findet Bernard zwei weitere von dem beschriebenen verschiedene Pilze. Er charakterisiert alle drei nach ihrem Wuchs auf Karotten in kurzer Diagnose, etwa wie folgt:

1. Cattleya-Pilz: Auf dem Substrat kriechendes Mycel: starke Oospora-ähnliche Sporenbildung.

2. Odontoglossum-Pilz: Starke Entwicklung eines flaumigen Luftmycels; verzögerte Bildung monilienartiger Sporen.

3. Phalaenopsis-Pilz: Noch stärkere Entwicklung des Mycels. Auf dem Glase durch Verwicklung und Anastomosenbildung der Hyphen kleine Sklerotien.

Dieses letzten Pilzes wegen hält Bernard die Orchideenpilze näher als mit Oospora verwandt mit Rhizoctonia (solani). Die physiologischen Eigenschaften, die er bei den Pilzen fand, beschränken sich auf die Art ihrer Einwirkung auf Orchideensamen und werden uns später beschäftigen.

Die Isolierungsmethode Bernards mußte sich noch vervollkommnen lassen. Die Identifizierung des Pilzes ist nach Bernard nur durch Prüfung seiner Fähigkeit, die nicht immer vorhandenen Samen der entsprechenden Orchidee zur Keimung zu veranlassen, möglich. Diese Prüfung kann sogar resultatlos verlaufen; hat doch Bernard Zustände der Unwirksamkeit an dem Pilze beobachtet. Sie ist nicht mehr nötig, wenn es gelingt, mit solchen Vorsichtsmaßregeln zu arbeiten, daß ein Wachstum eines fremden Pilzes in hohem Grade ausgeschlossen erscheint. Wird doch einmal eine Infektion stattfinden, so sind die infizierenden Pilze entweder sofort als gewöhnliche Saprophyten zu erkennen, oder es wird das Studium ihrer physiologischen Eigenschaften bedeutende Abweichungen von denen der Endophyten ergeben.

Unsere Methode weicht von der Bernard'schen um einiges ab.[1]) Ein kleiner einfacher Apparat dient zum Ausstechen der Wurzelstücke; seine Zusammensetzung ist folgende: In einer ausgezogenen und am kapillaren Ende abgeschnittenen Glasröhre befindet sich ein Glasfaden (zugeschmolzene Kapillare, wie sie beim Ausziehen der Glasröhre entsteht), der sich, durch Watte am Herausfallen verhindert, in der Röhre verschieben läßt und es ermöglicht, einen an der Spitze derselben befindlichen Körper hinauszubefördern. Die Weite der Kapillare ist der Dicke der auszustechenden Wurzel entsprechend zu wählen. Von den beschriebenen Röhren werden eine größere Anzahl präpariert, in Papier gewickelt und bei 160° trocken sterilisiert. Mehrere zentimeterlange Stücke der Orchideenwurzel werden

[1]) Gallaud (04) hat sich mit einer ähnlichen Methode befaßt, aber infolge der Wahl seiner Objekte kein Resultat erhalten.

gut mit Seife gewaschen, einige Sekunden in 70 proz. Alkohol getaucht und mit sterilem Fließpapier getrocknet. Sodann faßt man sie mit den aseptisch gemachten Fingern und schneidet mit abgeflammtem Messer ein Stückchen von der Wurzel ab. Weiter nimmt man die Röhre aus dem Papier, zieht den Glasfaden genügend weit zurück und führt das Ende der Kapillare derart in die Schnittfläche ein, daß die Epidermis der Wurzel nicht berührt, jedoch ein Teil der darunter liegenden Pilzschicht getroffen wird. Ist die Kapillare mehrere Millimeter tief eingedrungen, zieht man sie ein wenig zurück, schneidet die Wurzel an der vor dem Ende der Kapillare liegenden Stelle ab und streift den äußeren Wurzelteil auf das dicke Ende der Röhre, wo er aufreißt und abfällt. Das ausgestanzte Stück wird nun mit der Kapillare tief in den Kulturboden eingeführt und mit dem Glasfaden herausgestoßen.

Auf die angegebene Weise ist es fast immer möglich, von fremden Pilzen freie Kulturen zu erhalten. Gegen die Bakterien, die bei zu kräftiger Entwicklung die Pilze am Herauswachsen verhindern, lassen sich einige Vorkehrungen treffen. Wenn man darauf achtet, daß der Wurzelausstich tief genug in den nicht zu dünn ausgegossenen Nährboden geführt wird, und daß ihn keine Luftblasen vom Substrate trennen, werden die meist aeroben Bakterien nur an der Einstichstelle stark wachsen. Übrigens sind die Orchideenpilze sehr widerstandsfähig gegen die Bakterien und gelangen meistens bald aus deren Bereich heraus, so daß sie sich rein gewinnen lassen. Nur bei einigen sehr rasch an der Oberfläche des Substrates hinwachsenden Bakterien ist die Isolierung des Pilzes schwierig. Das sonst übliche Mittel, den Nährboden anzusäuern, ist hier nicht am Platze, weil der Pilz schon durch äußerst geringe Säuremengen erheblich geschädigt werden kann. Die gewöhnlich verwandte Milchsäure verhindert bereits bei einer Konzentration von 2 ccm Normalsäure auf Hundert das Wachstum der Pilze mit wenigen Ausnahmen, und diese Menge vermag das Bakterienwachstum noch nicht einmal genügend zu unterdrücken. Dafür kann die

Wahl eines sehr wenig konzentrierten Substrates von großem Vorteil sein, da es die zu üppige Entwicklung der Bakterien ausschließt. Die besten Resultate erhielten wir mit gewöhnlichem Fadenagar und Regenwasser, dem eine Spur Stärke zugesetzt war.

Das Auswachsen des Pilzes läßt sich unter dem Mikroskop leicht verfolgen. Das Zeichen des echten Endophyten ist es, wenn er von verschiedenen Stellen, womöglich von der ganzen Peripherie des Ausstichs ausstrahlt. Entsteht an einem Punkte der Peripherie ein Stern von Hyphen, so ist Infektion zu befürchten.

In der beschriebenen Weise wurden eine ganze Anzahl von Mycorrhizapilzen unserer einheimischen und einiger tropischen Orchideen kultiviert. Bei manchen Formen gelang dies leicht, bei anderen schwieriger, bei den Holosaprophyten endlich überhaupt nicht, trotz großer Bemühungen.[1])

Analog den Resultaten Bernards zeigte es sich, daß die Pilze, alle morphologisch verschieden, dennoch zu einer einheitlichen Gruppe gehörten.

Im folgenden geben wir die Beschreibung einer Anzahl von Formen, wollen aber eine allgemeinere Charakteristik vorausschicken.

B. Entwicklungsgeschichte und Systematik.

Allgemeine Charaktere.

Die von der Impfstelle auf der Kulturschale auswachsenden Hyphen sind hyalin und gleichmäßig septiert. Sie verzweigen sich wenig und zeigen ein unbegrenztes Wachstum in einer Richtung. Wir wollen sie nach Analogie mit der Morpho-

[1]) Peclo (06) hat aus den Wurzeln von Neottia nidus avis einen Pilz kultiviert und hält ihn für den richtigen Endophyten. Gerade bei dieser Pflanze und ebenso bei Corallorhiza innata verliefen unsere Versuche ergebnislos, trotz Verwendung vielfach variierter Nährböden wie Regenwasseragar, Salepagar, Stärkeagar, Agar mit Zusatz zerriebener Orchideenknollen, Neottiawurzeln und Corallorhizarhizomen. In keinem Falle wuchs der Pilz heraus, obgleich die Ausstiche häufig ganz steril blieben

logie der Gefäßpflanzen, mit „Langhyphen" bezeichnen. Ihnen entspringen in ziemlich regelmäßigen Abständen stark verzweigte „Kurzhyphen", die, von geringerem Durchmesser, die Ausnutzung des Substrates übernehmen. Je nach Art der Kulturbedingungen können statt dieser Kurzhyphen wenig verzweigte Konidienketten gebildet werden, deren Glieder wir meist mit Sporen bezeichnen. Sie entstehen aus den sporogenen Hyphen durch Verdickung der hier kürzer angelegten Glieder. Sie sind länglich oder kürzer oval, bei manchen Formen fast kugelig, hyalin mit kaum bemerkbar verdickter Wandung. Sind alle Glieder einer sporogenen Hyphe zu Sporen verwandelt, so findet an der Spitze der Kette meist ein Hervorsprossen neuer Glieder statt, das diese um das mehrfache verlängern kann. Die Sporenverbände sieht man auf festem Substrat gewöhnlich über die ganze Schale verteilt. Häufig bilden sich auch größere Batrachospermum-ähnliche Verbände, die durch Sprossung und Anastomosenbildung zu festen, mehrere Millimeter dicken Sklerotien heranwachsen können. Die Sporenhaufen geben mit ihrer weißen oder bräunlichen Farbe vielen Formen ein charakteristisches Aussehen. Im Alter sind Hyphen und Sporen des Pilzes gleichmäßig mit einem fetten Öl erfüllt. Bei der Mehrzahl der Pilze geht diese Entwicklung unter der Oberfläche des festen oder flüssigen Substrates vor sich, eine Deckenbildung findet nicht statt. Die Kulturen bleiben durchsichtig. Bei anderen entsteht eine wollige Decke, die aber die bei den Schimmelpilzen bekannte filzige Konsistenz niemals erreicht. Am Rande des Gefäßes emporzuwachsen ist vielen Pilzen möglich, auch werden hier Sporen und Sklerotien gebildet; der Grad der Ausbildung dieser Erscheinung ist abhängig von der Höhe der Luftfeuchtigkeit.

Ein Auseinanderfallen der Sporen, wie es Bernard für seinen Cattleya-Pilz beschreibt, konnte nicht konstatiert werden; die relativ dünnen Querwände der Sporenglieder machen dies schon unwahrscheinlich. Die Art der Verbreitung

des Pilzes muß vielmehr in der Loslösung ganzer Sporenhäufchen zu suchen sein, die sich tatsächlich leicht vom Mycel trennen und selbst an glatten Gegenständen (Platinnadel) gut haften. Bei O. chloranthae F. scheinen die schnell abtrocknenden gekrümmten Endglieder das Anhängen zu begünstigen.

Der Keimungsmodus der Sporen deutet ebenfalls darauf hin, daß die Bedingungen zu einem Auseinanderfallen der Einzelglieder nicht gegeben sind: Ist an einer Sporenkette die Spitzensprossung noch im Gange, ehe das Austrocknen eintrat, so wächst bei der Keimung, die z. B. in Wasser sofort erfolgt, das zuletzt angelegte Glied einfach zur Langhyphe aus. An älteren Sporen können an jeder Stelle Hyphen austreten, doch keimen nicht alle Sporenglieder aus.

Von hohem Werte für die Beurteilung des physiologischen Verhaltens unserer Pilzgruppe scheint uns weiter das Auftreten einer ganz außerordentlichen Menge von Fusionen verschiedener Art. Arthur Meyer (02) teilt die bei Pilzen vorkommenden Fusionen in drei Gruppen: Zweigbrücken, Berührungsbrücken und Schnallenbrücken. Zweigbrücken entstehen hier überall, wo sich Hyphen begegnen, seien es Lang- oder Kurzhyphen, inner- und außerhalb des Substrates. Auch Sporenketten anastomosieren an den Berührungspunkten. Berührungsbrücken finden sich an allen neben einander liegenden Hyphen, besonders regelmäßig in den später zu besprechenden Knäueln. Schnallenbrücken kommen nicht vor. Die am Deckel der Petrischalen wachsenden Hyphen anastomosieren besonders häufig und überziehen diesen schließlich mit einem feinmaschigen Netz. Ist die Luftfeuchtigkeit in der Schale eine relativ hohe, können an diesem Netz Sporen und Sporenhäufchen gebildet werden. Der Pilz besitzt also die Fähigkeit, in größerer Entfernung von seiner Nahrungsquelle Nahrungsdepots anzulegen, er vermag somit Stoffe zu transportieren. Hebt man den Deckel der Schale einmal in die Höhe und zerreißt man damit die Hyphen am Rande, so wird

der anastomosierende Hyphenkomplex isoliert, das Wachstum wird hier verlangsamt, und beschleunigt sich erst wieder, wenn neue vom Substrat am Rande hinaufwachsende Hyphen die Verbindung wieder hergestellt haben. Läßt man den Deckel längere Zeit abgehoben in der trockenen Luft des Zimmers liegen, so trocknen die Pilzhyphen rasch ein. Gibt man nach 3—4 Tagen wieder Wasser in den Deckel, nehmen nur die Sporen und die Hauptverbindungshyphen Wasser auf, die Kurzhyphen und alle solche, die keine direkten Verbindungen zwischen größeren Plasmakomplexen (Sporen und Sklerotien) bilden, sind abgestorben.

Der Pilz kann also auch bei starker Trockenheit kurze Zeit in seiner ganzen Ausdehnnng am Leben bleiben, um sich bei Wiedereintreten von Feuchtigkeit vermöge der mehr zu Nahrungsdepots als zu Verbreitungsorganen dienenden Sporen zu regenerieren.

Eine weitere Eigenschaft der Mehrzahl unserer Orchideenpilze ist das Vorkommen knäuelartiger Hyphenverbände. An allen an die Luft grenzenden Stellen (auf der Oberfläche des festen Nährbodens, der Glaswand der Röhren oder des Schalendeckels) bilden sie sich. Eine sich etwas über das Substrat erhebende kurze Lufthyphe scheidet an ihrer Spitze Wasser aus, das die Form eines kleinen Tröpfchens annimmt und sie vermutlich vermöge seiner Oberflächenspannung verhindert, aus ihm herauszuwachsen. Die Hyphe beginnt daher, sich, im Kreise herumwachsend, spiralig aufzurollen. Schließlich fällt das Gebilde um, und die Hyphenspirale entsendet nach allen Richtungen Zweige, die teils ins Substrat verlaufen, teils die Ringhyphen auf der anderen Seite treffen, mit ihnen fusionieren, oder sich an sie anlegen und unter Bildung von Kontaktanastomosen im Kreise mit wachsend den Knäuel verstärken helfen. Das Resultat ist schließlich ein Hyphenknäuel, der, schon makroskopisch als weißes Pünktchen sichtbar, eine Größe von 100 μ überschreiten kann.

Merkwürdig ist die Tatsache, daß die älteren Verbände

solcher geknäuelter Hyphen ganz auffällig an die in den Zellen der Orchideenwurzel vorkommenden erinnern.

Es ließe sich der Grund vielleicht in dem Bestehen entfernt ähnlicher physikalischer Verhältnisse in der Pflanzenzelle suchen, in der die in weitgehendem Maße dehnbare, doch schwer zerreißende innere Plasmaschicht, ähnlich wie das Oberflächenhäutchen des Wassertropfens funktionierend, der biegsamen und lose im Zellsaft liegenden Hyphe das Durchwachsen erschweren, und erst, wenn die Ausdehnung des Mycels in der Zelle einen kompakteren Pilzkörper geschaffen, erlauben könnte.

Die cytologischen Verhältnisse sind rasch beschrieben. Die Glieder der Langhyphen enthalten je 2—10 Kerne, die Sporen regelmäßig 2 Kerne, die sehr klein sind.

Im Folgenden geben wir die genaue Beschreibung von 15 verschiedenen Orchideenpilzen, ob es Arten oder verschiedene Wuchsformen weniger Arten sind, wollen wir nicht entscheiden, da wir nichts von einer anderen Fruktifikationsform, die als geschlechtliche gedeutet werden könnte, wissen; es folgt darauf der Versuch einer Zusammenstellung dieser und später isolierter Pilze in natürliche Gruppen.

Die Orchideenendophyten bilden nach den Ausführungen dieser Arbeit eine morphologisch und physiologisch einheitliche Gruppe. Bernard stellte die Orchideenpilze zur Gattung Rhizoctonia wegen der Ähnlichkeit eines der Pilze mit Rhizoctonia solani. Da uns dies noch nicht genügend begründet erscheint, und wir eines Namens bedürfen, wollen wir die Gruppe einfach mit „Orchideenpilz" = Orcheomyces bezeichnen, ohne diesem Namen eine systematische Bedeutung zuzuerkennen.

Orcheomycetes (Orchideenpilze).

Konidien wie bei Oospora eiförmig oder länglich zylindrisch, kettenförmig auf kurzen nicht scharf abgesetzten Tragästen, doch häufig fusionierend und Sklerotien bildend.

A. Sklerotien, wenn gebildet, aus anastomosierenden Sporenketten bestehend.

I. Hyphenknäuel häufig (auf jedem □ mm) an der Oberfläche des Substrats.

a. Hyphen sich über das Substrat erhebend und einen dünnen flaumigen Überzug bildend; am Rande der Schale an den Deckel wachsend.

1. O. tenthrediniferae. Hyphen einen flaumigen Überzug auf festem Substrat (auf flüssigem eine Decke) bildend. Langhyphen in älteren Kulturen gebräunt, 4,5—5,5 μ breit; hyalin. Die aus anastomosierenden Sporenketten bestehenden Sklerotien auf dem Substrat und am Deckel bräunlich, in feuchten Kulturen in der Form von Pycniden.

Sporen mit hyaliner, später bräunlicher Wand zu einzelnen Ketten und zu Sklerotienverbänden vereinigt, in, auf dem Substrat und am Deckel; Einzelsporen 7—9 μ breit, 20—40 μ lang. Nachgewiesene Fermente Diastase, Emulsin, Cytasen und proteolytische Enzyme.

Isoliert aus Ophrys tenthredinifera (bezogen von Haage & Schmidt, Erfurt).

Fig. 1. Habitusbild des Pilzes; erst in einiger Entfernung vom Mittelpunkt der Kultur erhebt sich das Mycel über das Substrat und bildet hier Sporenhäufchen. Kultur 14 Tage alt; auf Stärkeagar. $^3/_4$: 1 nat. Größe.

Fig. 2. Sporenketten am Rande eines Sporenhaufens im Substrat.

Fig. 3. Anastomosierende Sporenketten am Deckel der Schale in Wasser auskeimend.

Fig. 4. Zur Demonstration der in den Sporen angehäuften Ölmenge: Ölabscheidung länger ausgetrockneter Sporenketten und Hyphen am Deckel bei Benetzung mit destilliertem Wasser.

2. O. araniferae J. Wuchs[1]) über der Oberfläche des

[1]) Wo nichts besonderes vermerkt, beziehen sich die Angaben über Wuchs und Sporenbildung der Pilze auf ihr Gedeihen auf Stärkeagar (2—3 Proz. Stärke 1/20 Proz. Ammoniumchlorid, neutralisierter „MN“ Nährlösung nach A. Meyer) in Petrischalen.

Substrates, doch schwächer als bei O. tenthrediniferae. Hyphen am Rande an den Deckel wachsend; Langhyphen 3—5 μ breit. Sporenbildung im Substrat und am Deckel; keine Sklerotien. Sporenketten im Substrat mit je 2—5 Sporen, selten verzweigt. Sporen unregelmäßig, rundlich bis oval 14—20 μ breit, 18—22 μ lang; am Deckel größer, 13—18 μ breit, 25—30 μ lang, in traubig angeordneten längeren Ketten, die wie die Hyphen mit einander fusionieren. Knäuelbildung an der Oberfläche des Substrates und am Deckel.

Nachgewiesene Fermente: Diastase und Emulsin.

b. Hyphen nur am Rande der Kultur über das Substrat empor und an den Deckel wachsend.

3. O. apiferae. Wuchs im Substrat, Hyphen in feuchten Kulturen — z. B. wenig hohen Petrischalen — den Deckel erkletternd. Langhyphen 6—7 μ breit. Sporen in wenigliederigen Ketten durch das ganze Substrat verteilt. Keine Sklerotienbildung. Sporen fast rundlich 14—20 μ breit, 15—22 μ lang. Einzelglieder, wenn endständig, zuweilen von bedeutender Größe: bis zu 25 : 25 μ, kugelig. Die Träger der Sporenketten meist nicht septiert 10 μ und mehr breit. Reichliche Bildung von bis zu 100 μ dicken Hyphenknäueln auf dem Substrat und am Deckel.

Nachgewiesene Fermente: Diastase, Maltase und keine Invertase. Emulsin.

Isoliert aus Ophrys apifera (Jena).

Fig. 5. Junger Hyphenknäuel am Deckel der Petrischale.

Fig. 6. Sporenketten im Substrat.

Fig. 7. Wuchs des Pilzes in Flüssigkeit (Salepdekokt). Der Pilz bildet eine lockere, schwer zerteilbare Flocke. In der Mitte die Region der stärksten Sporenbildung.

4. O. musciferae. Wuchs im Substrat; nur in sehr feuchten Kulturen — in Reagiergläsern mit festem Substrat — an die Glaswand steigend, und dort zum Unterschiede von

O. apiferae Sporen bildend. Langhyphen 3—5 μ breit. Sporenketten zunächst unregelmäßig im Substrat verteilt, später in kugeligen, sklerotischen Häufchen auf dem Substrat, die in mehreren Monaten zu bis 5 mm dicken Sporensklerotien werden können. Einzelsporen 12—15 μ breit, 23—27 μ lang. Knäuelbildung wie bei vorigem.

Nachgewiesene Fermente: Diastase, Emulsin und keine Invertase, proteolytische Enzyme.

Isoliert aus Ophrys muscifera (von Haage & Schmidt, Erfurt).

Fig. 8. Habitusbild einer ca. 14 Tage alten Kultur bei schräg durchfallendem Licht. Der Pilz wächst nur sehr langsam weiter, wohl deshalb, weil Stoffwechselprodukte durch das ganze Substrat diffundiert sind. Die stärkste Sporenbildung erfolgt in einiger Entfernung von dem Zentrum. $^4/_5$: 1 nat. Größe.

Fig. 9. Habitusbild einer 4 Monate alten Kultur bei auffallendem Licht; einzelne Sporenhäufchen sind zu mächtigen Sklerotien ausgewachsen. $^3/_4$: 1 nat. Größe.

Fig. 10. Sporenketten im Substrat einer jungen Kultur.

5. O. psychodis. Im Habitus der Kultur dem Vorherigen gleich. Langhyphen nur 3 μ breit. Sporenketten in zahlreichen bis 0,3 mm dicken, regelmäßig im Substrat verteilten Häufchen. Einzelglieder 9—13 μ breit, 13—15 μ lang. Nachgewiesene Enzyme: Diastase, Maltase und keine Invertase, Emulsin.

Isoliert aus Habenaria psychodes (Haage & Schmidt, Erfurt).

Fig. 11. Sporenhäufchen aus 14 Tage alter Kultur auf magerem Stärkeagar (0,05 % Stärke), Sporen noch nicht vollständig verdickt. Unten rechts ein Häufchen verästelter Saughyphen, die nicht zu Sporen umgebildet werden.

Fig. 12. Sporenhäufchen aus 6 Wochen alter Kultur auf fetten Stärkeagar (2 % Stärke). Saughyphen werden nicht mehr gebildet, die Sporen sind ausgewachsen.

6. O. sambucinae. Wuchs nur in dem Substrat; keine am Rande an den Deckel wachsenden Hyphen. Knäuelbildung

an der Oberfläche des Substrats. Langhyphen 4—5 μ breit. Sporenbildende Äste nur im oberen Teile septiert, nicht zu Häufchen vereinigt, gleichmäßig in der Kultur verteilt. Sporen 7—8 μ breit, 10—14 μ lang.

Nachgewiesene Fermente: Diastase, Maltase, Emulsin und proteolytische Enzyme.

Isoliert aus Orchis sambucina (Jena).

II. Knäuelbildung selten oder fehlend.

a. Langhyphen deutlich von den Kurzhyphen zu unterscheiden; bis zu 5 μ breit, lang gegliedert.

Hyphen auf dem Substrat einen flaumigen Überzug, an der Decke Sporen und Sporenhäufchen bildend.

7. O. labiatae. Sehr üppiger Wuchs in und auf dem Substrat. Die Mycelien bilden einen flaumigen auf sehr gutem Nährboden fast filzigen Überzug. In Kulturen auf flüssigem Substrat wird eine Decke gebildet. Langhyphen 6—7 μ breit. Sporenketten in lockeren oder dichteren Häufchen vereinigt auf dem Substrat und am Deckel. Sporen bräunlich, sehr frühzeitig mit farblosen Öltröpfchen erfüllt; 10—13 μ breit, 20—25 μ lang. Keine Knäuelbildung. Nachgewiesene Fermente: Diastase, Invertase, Emulsin, proteolytische Enzyme.

Isoliert aus Cattleya labiata (Hortus Jenensis).

Fig. 13. Junge, 4 Tage alte Kultur im schief durchfallendem Licht. Langhyphen kriechen vom Zentrum nach der Peripherie. $^3/_4$: 1 nat. Größe.

Fig. 14. 14 Tage alte Kultur. Sporenhäufchen gebildet und wie das Mycel gebräunt. $^3/_4$: 1 nat. Größe.

Fig. 15. Ein isoliertes Sporenhäufchen aus derselben Kultur. Hyphen und Sporen mit Öltröpfchen. An den Enden der Sporenketten Hefesprossung.

8. O. chloranthae G. Dem O. tenthrediniferae im Habitus sehr ähnlich. Langhyphen im Substrat 6—7, am Deckel 7—8 μ breit, häufig von geschlängeltem Wuchs. Auf der Oberfläche des Substrates und am Deckel feste sklerotische

Sporenverbände, von rötlichgelber Farbe. Sporen 9—13 μ breit, 24—30 μ lang; im Substrat etwas kleiner, als am Deckel; Knäuelbildung selten. Nachgewiesene Fermente: Diastase, Emulsin und proteolytische Enzyme, aber keine Invertasen.

Isoliert aus Platanthera chlorantha (G. = Graitschen bei Jena).

Fig. 16. Wuchs im Substrat. Junge Kultur mit unfertigen Sporen. Langhyphen durch Anastomosen mit einander verbunden.

Fig. 17. Anastomosierende Sporenketten am Deckel einer jungen Kultur.

b. Hyphen keinen flaumigen Überzug bildend, nur unter dem Substrat wachsend und höchstens am Rande der Schale den Deckel erklimmend.

9. O. araniferae R. Wuchs langsam, wenig üppig. Langhyphen 2.5—3.5 μ breit, Sporenbildung in schwach konzentriertem Substrat in Häufchen, sonst gleichmäßig in der ganzen Kultur verteilt. Sporen sehr klein, 5—7 μ breit, 6—9 μ lang, fast kugelig, den Sporen von O. psychodis sehr ähnlich. Knäuelbildung selten.

Nachgewiesene Enzyme: Diastase, Emulsin.

Isoliert aus Ophrys aranifera (Riva, Südtirol).

Fig. 18. Bildung von Sporenketten und Saughyphen im Substrat. Die Sporenketten entstehen aus nur einer oder zwei durch Septierung und Verdickung angelegten Sporen durch Sprossung.

10. O. linguae. Sehr lockerer Wuchs unter der Oberfläche des Substrates. Am Schalenrande in sehr feuchten Kulturen an die Decke steigend. Langhyphen 5 μ breit. Sporenketten im Substrat zu kleinen (0,2—0,3 mm), sehr zahlreichen regelmäßig verteilten Häufchen vereinigt, am Deckel in lockeren Verbänden. Einzelglieder 11—13 μ breit, 11—14 μ lang, bisweilen fast kugelig. Knäuelbildung selten.

Nachgewiesene Fermente: Diastase, Invertase und Emulsin. Isoliert aus Serapias lingua (Haage & Schmidt, Erfurt).

11. O. Harrisiani. Mit dem Vorigen morphologisch fast ganz übereinstimmend. Sporen 10—12 μ breit, 12—15 μ lang. Zum Unterschiede von O. linguae verbreitet die Kultur einen intensiven Geruch nach einem Fruchtäther, und es invertiert der Pilz Maltose.

Isoliert aus Cypripedium Harrisianum (villosum×barbatum). (Hortus Jenensis.)

12. O. arachnitis. Wuchs im Substrat. Langhyphen 3—4 μ breit. Die mehr oder weniger zylindrischen, sehr unregelmäßig ausgestalteten Sporen im Substrat verteilt. Sehr wenige Glieder an einer Kette. Einzelglieder 5—8 μ breit, 10—12 μ lang.

Nachgewiesene Enzyme: Diastase, Maltase, Emulsin und proteolytische Enzyme.

Isoliert aus Ophyrs arachnites (Haage & Schmidt, Erfurt).

13. O. fuscae. Langsamer, dichter Wuchs im Substrat. Auffallende Ringbildung. Langhyphen 4—5 μ breit, Kurzhyphen sehr stark verästelt. In 1—2 Monate alten Kulturen treten wenig aus 2—3 Gliedern bestehende Sporenketten auf. Sporen unregelmäßig 7—8 μ dick, 14—16 μ lang. Nachgewiesene Enzyme: Diastase und Emulsin.

Isoliert aus Ophrys fusca (Haage & Schmidt, Erfurt).

c. Keine deutliche Unterscheidung von Lang- und Kurzhyphen möglich.

14. O. maculatae.[1]) Wuchs unter der Oberfläche des Substrates; am Rande über diese hinaus und dünn filzig werdend; Mycel nicht an den Deckel kletternd. Hyphen kurz gegliedert: die nur 40 - 60 μ langen Glieder an den Internodien breiter (11—12 μ), als an den Knoten (9—10 μ).

Sporen zu Häufchen von einem Durchmesser bis zu 1 mm auf und in dem Substrat, sehr unregelmäßig, bräunlich gefärbt, ohne bemerkbare Wandverdickung 25—30 μ breit, 25—35 μ

[1]) Ein Pilz, dem lediglich seine Sporenbildung einen Platz in der Gruppe anweist.

lang. (Auf stark konzentriertem Substrat [4 Proz. Stärke] schwellen die Hyphen — zum Unterschied von denen der anderen Pilze, die ihren Durchmesser kaum vergrößern — stark blasig an und führen große Vakuolen; ihr Querdurchmesser kann den normalen um das 5- bis 8fache übersteigen.)

Isoliert aus Orchis maculata (Jena).

B. Sklerotien am Schalendeckel aus kurzen gekrümmten Hyphen gebildet.

15. O. chloranthae F. Dichter Wuchs in und über dem Substrat. Am Rande und zuweilen direkt vom Substrat aus erreichen die Lufthyphen den Deckel, wo sie sich ausbreiten. Aus kurzen gekrümmten Hyphenstücken, die allenthalben mit einander fusionieren, entsteht ein feinmaschiges Netz und später zahlreiche ziemlich große (bis 6 mm und mehr messende) Sklerotien. Langhyphen 6—7 μ: die gekrümmten Kurzhyphen am Deckel 8—10 μ breit. Sporenbildung in langen Ketten allenthalben in und auf dem Substrat, in älteren Kulturen zu Häufchen vereinigt, die den Sklerotien am Deckel makroskopisch völlig gleichen. Die Homologie beider Gebilde ist evident, zumal auf stickstoffarmem Substrat die aus gekrümmten Kurzhyphen gebildeten Sklerotien statt der Sporenhaufen auf der Oberfläche erscheinen.

Nachgewiesene Fermente: Diastase, Emulsin und proteolytische Enzyme.

Isoliert aus Platanthera chlorantha (F. = Forst bei Jena).

Fig. 19. Habitusbild einer Kultur in schief durchfallendem Licht. Der Deckel ist daraufgelassen, die schwärzlichen Massen an demselben sind die Hyphensklerotien, die

Fig. 20. bei starker Vergrößerung zeigt, auch hier tritt in älteren Kulturen ein fettes Öl in den Hyphen auf.

Fig. 21. Sporenketten im Substrat am Rande eines Sporenhäufchens.

Fig. 22. Wuchs und Deckenbildung auf Salepdekokt.

In der Folge isolierte ich noch eine Reihe anderer Orchideenendophyten, so aus:

16. Gymnadenia conopea (Jena),
17. Orchis mascula (Jena),
18. Platanthera chlorantha R. (Rauhthal, Jena), wohl trotz des anderen Habitus der Kultur mit O. chloranthae F. identisch.
19. Platanthera viridis (Haage & Schmidt, Erfurt).
20. Goodyera repens (Jena),
21. Stanhopea tigrina (Hortus Jenensis).
22. Acropera Loddigesi (Hortus Jenensis),
23. Chysis bractescens (Hortus Jenensis),
24. Odontoglossum constrictum (Hortus Jenensis).
25. Oncidium Cavendishianum (Th. Franke, Groß-Ottersleben),
26. Oncidium sphacelatum (Th. Franke, Groß-Ottersleben),
27. Vanda suavis (Hortus Jenensis),
28. Phalaenopsis Schilleriana (Hortus Jenensis),
29. Cypripedium insigne-Gruppe (Th. Franke, Groß-Ottersleben).

Zur Rechtfertigung der systematischen Anordnung der ersten 15 Pilze seien hier einige Worte gesagt. Die Einteilungsprinzipien entsprechen nicht den in der Systematik üblichen Regeln. Insbesondere reißt die Einteilung in eine Gruppe von Pilzen mit starker Knäuelbildung und eine ohne solche einige zusammengehörige Formen auseinander. Die Gründe, warum diese Klassifikation gewählt wurde, sind praktischer Art. Ein Wiedererkennen der Formen schien uns in dieser Weise am ersten ermöglicht.

Nachdem die Isolierung der weiteren 14 Pilze erfolgt war, gewann ich einen besseren Überblick und konnte die näher zusammengehörigen Formen zu einer Anzahl von mehr natürlichen Gruppen vereinigen, die biologisch einigermaßen einheitlich erschienen. Von einer genauen Beschreibung der einzelnen Formen wurde dabei jedoch abgesehen, da diese die Trennung der Gruppen außerordentlich erschwert hätte.

Es ergibt sich dabei folgendes Bild:

I. Gruppe, Typus: O. psychodis.

Mycel an der Oberfläche und im Substrat kriechend, sich nicht in die Luft erhebend, Sporen gewöhnlich nur auf schwach konzentriertem Substrat (Regenwasseragar mit einer Spur Stärke) gebildet, in kürzeren oder längeren verzweigten und aus fast isodiametrischen Gliedern bestehenden Ketten. Bei Überimpfung des fertilen Mycels auf höher konzentrierte Substrate (Stärkeagar mit 1 Proz. Stärke und mehr) zunächst Auftreten von dicht batrachospermoiden Sporenhäufchen, dann bei längerer Kultur Sistierung der Sporenbildung.

Meist mehr oder weniger gute Keimungspilze für Cattleya, Laeliocattleya und Cypripedium.

Hierher: O. psychodis,
O. bractescentis,
O. linguae,
O. Harrisiani,
O. Loddigesi,
O. tigrinae,
O. insignis.

II. Gruppe, Typus: O. apiferae.

Wuchs an und unter der Oberfläche des Substrats. Die Dichte, insbesondere die Zahl und Art der Verzweigung der Lang- und Kurzhyphen sehr variabel, daher die Habitusbilder der Kulturen sehr verschieden. Sporenbildung bei längerer Kultur auf 1 proz. Stärkeagar im Substrat und an dem Schalendeckel, den die Hyphen zuweilen in feuchten Kulturen erklettern. Sporenketten meist kurz, aus in der Form variierenden Einzelgliedern zusammengesetzt, nicht in Sklerotien.

Pilze spezifischer Kalkorchideen.

Schlechte Keimungspilze für Cattleya, Laeliocattleya und Cypripedium.

Hierher: O. apiferae,
O. arachnitis.

O. sambucinae.
O. masculae.
O. fuscae.
O. araniferae R.

An die Gruppe II schließen sich an:

O. conopeae. Wuchs wie vorher. Sporenketten in großen schneeweißen sklerotischen Verbänden nur am Deckel der Schale und an trockenen Stellen an dem Substrat.

O. musciferae. Wuchs wie vorher; Sporen zuerst im Substrat und am Schalendeckel regelmäßig verteilt, in alten Kulturen in großen, festen Sklerotien auf dem Substrat.

III. Gruppe. Typus: O. chloranthae G.

Wuchs in und über dem Substrat, am Rande den Deckel erkletternd und Substrat und Deckel mit regelmäßigem, zu weilen flaumigem Hyphennetz überspinnend. Sporenketten zu weißen, bräunlichen oder rötlichen Sklerotien vereinigt, auf dem Substrat und am Deckel (bei O. chloranthae F. und O. chloranthae R. statt oder neben den Sporensklerotien solche aus kurzen gekrümmten Hyphengliedern). Einzelglieder der sehr langen Sporenketten gestreckt oder fast isodiametrisch, diese selbst außerordentlich häufig an allen Berührungsstellen anastomosierend.

Meist Pilze von Orchideen feuchterer Standorte.

Schlechte Keimungspilze für Laelio-Cattleyen: besser für Odontoglossum.[1])

Hierher: O. chloranthae G.,
O. chloranthae R.,
O. chloranthae F.,
O. viridis.
O. tenthrediniferae.
O. araniferae J.,
O. repentis.

Anschließend: O. labiatae mit dicht wolligem Mycel.

[1]) Es gelang, verschiedene Odontoglossen teils mit chlor. F., teils mit chlor. G. zu einigermaßen befriedigender Keimung zu bringen.

IV. Gruppe. Typus: O. constricti.

Flaumiges Mycel über dem Substrat; Wuchs wie bei voriger Gruppe. Weiß oder bräunlich gefärbte, lockere Sporensklerotien, die aus längeren, mehr oder weniger verzweigten, aus Einzelgliedern von variabelem Längen- und Querdurchmesser zusammengesetzten, sehr häufig fusionierenden Ketten bestehen. Habitusbilder der Kulturen viel ähnlicher als bei den Gruppen II und III.

Pilze tropischer Orchideen.

Einige davon vorzügliche Keimungspilze für Samen von Odontoglossum und Miltonia × Odontoglossum.

Hierher: O. constricti,
O. Cavendishiani.
O. sphacelati,
O. suavis.
O. Schillerianae.

V. Gruppe: O. maculatae.

Wuchs in und auf dem Substrat. Keine deutliche Differenzierung in Lang- und Kurzhyphen. Hyphen von unregelmäßiger, meist großer Dicke. Querdurchmesser an den Querwänden geringer. Sporenketten und Sklerotien in und auf dem Substrat in typischer Form.

C. Der Stoffwechsel.

1. Die Aufnahme der Kohlenhydrate.

Der zuerst rein kultivierte Orcheomyces apiferae wurde zunächst auf einen mit Salepdekokt hergestellten Agar gebracht. Der Salep lieferte als organisiertes Produkt Kohlenhydrate, Stickstoff und Salze. Der Wuchs des Pilzes war langsam, wenig üppig, die Sporenbildung reichlich.

Die später zu besprechende charakteristische Art der Einwirkung des Pilzes auf die Entwicklung der Orchideensamen und einige Befunde an der Wurzelanatomie der Orchideen

ließen die Frage aufkommen, ob der Pilz ein diastatisches Enzym besitze, vermöge dessen er fähig sei, die Stärke in den Pflanzenzellen selbständig aufzulösen. Es wurden daher mit O. apiferae und einigen anderen hinzugekommenen Pilzen Kulturen auf genau bestimmten Nährböden angestellt. Das zunächst verwandte Substrat bestand aus 3—4 Proz. Kartoffelstärke, stickstofffreier mineralischer Nährlösung (statt KH_2PO_4 wurde das alkalische K_2HPO_4 angewandt) nach Arthur Meyer, 0,05 Proz. Ammoniumchlorid und 1,5 Proz. Agar. Es stellte sich sofort heraus, daß das Wachstum der Pilze auf diesem stärkereichen, etwas alkalischen Substrat etwas von seiner ursprünglichen Langsamkeit verloren hatte. Doch trat ein anderer Übelstand auf: Die auf Salep-haltigem Substrat bei den meisten Formen reichliche Sporenbildung wurde weniger stark, hörte bei O. musciferae sogar ganz auf. Die große Menge der Kohlenhydrate bildete die Veranlassung Durch einen geringeren Gehalt an Stärke (2 Proz.) und einen kleinen Salepzusatz wurde ein Substrat gefunden, das die Vorzüge raschen Wuchses und reichlicher Sporenbildung des Pilzes vereinigte. Auf diesem Boden zeigten die einzelnen Pilze eine verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit. Bei einem Kulturversuch waren die Radien der Kulturen auf den Petrischalen bei einer Temperatur von 23° nach acht Tagen die folgenden:

O. labiatae 4,5, tenthrediniferae 4,5, chloranthae G. 3,8, psychodis 3,6, maculatae 3,6. Harrisiani 3,3, chloranthae F. 3,2, serapiadis 3,2, apiferae 2,7, araniferae J. 2,6, arachnitis 2,3, sambucinae 2,2, musciferae 1,8, araniferae R. 1,4, fuscae 1,3 cm.

Die Sporenbildung tritt bei den angeführten Formen erst in der zweiten und dritten Woche ein. Häufig, besonders bei langsam wachsenden Pilzen, wird das Wachstum nach einiger Zeit sistiert, wenn auch die Schale noch nicht ganz mit Mycel angefüllt ist. Der Grund dieser Erscheinung ist wohl in der Anhäufung von Stoffwechselprodukten zu suchen, die dem Pilze das Weiterwachsen erschweren.

An Kohlenhydraten erwiesen sich als die am besten ge-

eigneten Stärke, Maltose und Sacharose; weniger gut waren Glukose und Dextrin; am geringsten wuchsen die Pilze auf einem Boden, der Glyzerin als Kohlenstoffquelle enthielt.

Das Vorhandensein eines diastatischen Enzyms, das schon vorausgesetzt werden mußte, ließ sich durch die Jodreaktion auf der Platte demonstrieren. Am besten gelang der Versuch auf Gelatinekulturen. Das angewandte Verfahren war folgendes: Kulturen, die 8 Tage auf Stärkegelatine (Min. Nährlösung nach A. Meyer 10 Proz. Gelatine, 0,05 Proz. Ammoniumchlorid, und 4 Proz. Stärke) bei einer Temperatur von 23° gewachsen waren, wurden herausgenommen und unter eine Glasglocke in eine mit Chloroformdämpfen gesättigte Atmosphäre gebracht. Die Pilze stellten sofort ihr Wachstum ein und starben ab. Nach 8 Tagen war das Enzym soweit in die Umgebung der Kultur diffundiert, daß sich seine Anwesenheit leicht durch die Jodreaktion, die durch Aufgießen stärker verdünnter Jodlösung auf die Platte mit nachfolgendem Auswaschen mit Wasser vorgenommen wurde, feststellen ließ. Insbesondere zeigte es sich, daß zum Unterschied von anderen Diastase absondernden Pilzen, so z. B. von Penicillium, das Enzym eine große Menge Erythrodextrin entstehen läßt, das nach Behandlung der Schale mit Jodlösung als breiter roter Hof die Kultur umgibt.

Die Resultate eines solchen Versuches sind auf folgender Tabelle verzeichnet:

1.

Kulturen auf Stärkegelatine; 8 Tage bei 23° gewachsen; 8 Tage in Chloroform, dann mit Jodlösung behandelt.

1.	chloranthae G.	Radius 24 mm,	18 mm entfärbt,	16 flüssig;	Erythrodextrin — 28 mm diffundiert.					
2.	chloranthae F.	„	40 „	36 „	„	34 „	„	— 45 „	„	
3.	apiferae	„	12 „	0 „	„	0 „	„	— 22 „	„	
4.	sambucinae	„	2 „	3 „	„	3 „	„	— 8 „	„	
5.	musciferae	„	1 „	3 „	„	3 „	„	— 12 „	„	

Vergleicht man die Ergebnisse mit einander, so findet man, daß die raschwachsenden Pilze 1, 2 und 3 die Stärke nicht so energisch zersetzen, wie die langsam wachsenden 4

und 5. Die Kulturen der letzteren schwimmen als kleine Mycelflocken in der gelösten Gelatine, die Bildung des proteolytischen Enzyms geht also hier Hand in Hand mit der des diastatischen, während bei den ersteren die Verflüssigung der Gelatine später eintritt wie die Lösung der Stärke.

Daß das Enzym nicht etwa erst aus dem durch das Chloroform abgetöteten Mycel diffundiert, beweist das wenn auch weniger ausgeprägte Vorkommen des Erythrodextrinringes und der Entfärbung bei nicht mit Chloroform behandelten Kulturen.

Die Menge der abgeschiedenen Diastase ist, wie aus obigem hervorgeht, eine quantitativ sehr geringe, besonders wenn man sie mit der z. B. von Penicillium gelieferten vergleicht. Zieht man jedoch den lockeren, wenig ökonomischen Wuchs der Pilze in die Berechnung, so erscheint sie als eine relativ hohe.

Die Pilze verhalten sich in der Ausnützung der Kohlehydrate ganz anders wie die echten Saprophyten. Bei Konzentrationen von 4 Proz. Stärke auf 100 wird das Wachstum bei vielen Formen lange vor Vollendung der gänzlichen Ausbreitung über die Schale sistiert. Die Frage wird uns später noch weiter beschäftigen.

Die höheren Zucker werden, wie schon erwähnt, von den Orchideenpilzen ebensogut verwertet wie die Stärke. Die Frage nach Vorhandensein entsprechender Enzyme lag nahe.

Zum Nachweis eines Maltose invertierenden Enzyms bedienten wir uns der Beijerink'schen Mykodermamethode.

Der Nährboden, bestehend aus Bouillongelatine mit 2 Proz. Maltose, wurde vor dem Festwerden mit Mykodermahefe versetzt und in Schalen ausgegossen. Als die Kolonien erschienen, wurden eine Anzahl Orchideenpilze aufgeimpft. Das Auftreten von Glukose zeigte sich bei einigen Pilzen durch stärkeres Wachstum der Hefekolonien im Bereich oder in der Umgebung des Pilzmycels. Die Wuchsintensität der Hefen gab einen Anhaltspunkt für die Stärke der Enzymabscheidung.

Orcheomyces harrisiani maculatae	Hefe wächst sehr stark, sie verdeckt nach innen den Pilz.
arachnitis apiferae sambucinae psychodis	Hefe wächst stärker in der Nähe des Pilzes.
linguae chloranthae G. labiatae	Ein Stärkerwachsen der Hefe ist nicht zu konstatieren.

Auf Invertase wurde in derselben Weise geprüft wie auf Maltase. Die Resultate waren folgende: Eine starke Wuchsintensität der Hefen veranlaßten nur O. linguae und labiatae: die Hefen gediehen nicht besser in Kulturen von O. psychodis. musciferae, apiferae und chloranthae G.

Die höheren Zucker werden also in verschiedener Weise aufgenommen, teils unmittelbar, teils durch das entsprechende Enzym. Die Maltase scheint nicht mit Invertase zusammen vorzukommen. Das scheinbare Fehlen beider Enzyme bei O. chloranthae kann darauf zurückzuführen sein. daß der dichtere Wuchs dieses Pilzes die Beobachtung erschwert und vielleicht unmöglich gemacht hat.

Von anderen Enzymen ließ sich bei fast allen Pilzen das Vorhandensein von Emulsin nachweisen. In kleine 50 cm Kölbchen wurde von einer amygdalinhaltigen Nährlösung (100 M. Nährlösung 0,05 NH_4Cl 1 Amygdalin) je 30 ccm eingegossen, nach dem Sterilisieren geimpft und die Kölbchen mit sterilisierten Korken verschlossen. Die Gefäße hielten wir 14 Tage im Thermostaten bei 23°. Die raschwüchsigen Formen. wie O. labiatae. tenthrediniferae. chloranthae G. und chloranthae F. hatten nach dieser Zeit die Flüssigkeit ganz mit ihrem Mycel angefüllt. Die langsamer wachsenden hatten Flocken von 1—2 cm Durchmesser gebildet. Als die Korke abgenommen wurden, war der Geruch nach Benzaldehyd fast bei allen vorhanden. Im einzelnen ergab sich folgendes:

	Wuchs	Intensität d. Geruchs
1. O. tenthrediniferae . .	+ + +	sehr stark
2. maculatae	+ + +	„ „
3. harrisiani	+ +	„ „
4. chloranthae G. . . .	+ + +	„ „
5. chloranthae F. . . .	+ + +	„ „
6. apiferae	+ + +	stark
7. musciferae	+ — +	„
8. araniferae J.	+ + —	„
9. psychodis	+ — —	„
10. linguae	+ + —	„
11. sambucinae	+ + +	„
12. labiatae	+ + +	schwach
13. arachnitis	+ + +	nicht wahrnehmbar
14. araniferae R.	—	„ „

Um festzustellen, ob das Emulsin auch bei Abwesenheit des Glykosids gebildet werde, wurden Stücke aus 2 Monate alten Stärkeagar-Kulturen in 2 proz. Amygdalinlösung unter Chloroformzusatz übertragen. Das Resultat war nach einem Zeitraum von 3×24 Stunden bei einer Temperatur von 27° folgendes:

	Intensität des Geruches		Intensität des Geruches
1. tenthrediniferae . . .	schwach	8. araniferae J. . . .	stark
2. maculatae	stark	9. psychodis	schwach
3. harrisiani	schwach	10. linguae	schwach
4. chloranthae G. . . .	sehr stark	11. sambucinae . . .	schwach
5. chloranthae F. . . .	stark	12. labiatae	stark
6. apiferae	schwach	13. arachnitis	schwach
7. musciferae	stark	14. araniferae R. . . .	stark

Aus beiden Experimenten ergibt sich, daß die Erzeugung von Emulsin keineswegs von der Wahl des Substrates, genauer, von dem Vorhandensein von Glykosiden abhängig, sondern eine in allen Fällen ausgeübte spezifische Eigenschaft der Orchideenendophyten ist.

Bei Gelatinekulturen von O. chloranthae F. und chlor-

anthae G. ließ sich auch in der gelösten, das Mycel nicht enthaltenden Gelatine das Enzym mit Leichtigkeit nachweisen.

Von anderen Glykosiden wurden Aesculin angewandt, das ebenfalls von fast allen Pilzen gespalten wurde.

Auf tanninhaltigem Boden vermochte nur O. labiatae zu gedeihen. Ein breiter brauner Ring in der Umgebung der Kultur ließ auf eine starke Abscheidung eines Stoffwechselprodukts schließen. Die chemischen Veränderungen des Naturbodens wurden nicht genauer untersucht.

Auf Tyrosinase wurden ebenfalls alle Pilze geprüft, indem Tyrosin als Kohlenstoffquelle zum Agar gegeben wurde.

Der Wuchs der Pilze war jedoch ein so schwacher, daß auf eine Verwertung des Tyrosins nicht geschlossen werden darf. Bei O. maculatae allein trat eine teilweise Schwarzfärbung der Hyphen ein, die auf das Vorhandensein von Tyrosinase in den Zellen deutet.

Auf Humusdekoktagar wuchsen alle Pilze gut. Bei O. chloranthae F. bräunte sich das Substrat in einiger Entfernung vom Rande des Mycels nach innen.

Zellulosespaltende Enzyme konnten nur bei dem raschwachsenden O. tenthrediniferae nachgewiesen werden. Er vermochte Filtrierpapier und Watte zu verwerten.

2. Die Aufnahme des Stickstoffs.

Die Stickstoffverbindungen, die den Orchideenpilzen zusagen, sind sehr verschiedener Natur. Bennecke gibt in seiner Ernährungsphysiologie der Pilze (S. 401) in Anlehnung an andere Autoren eine Klassifikation der Eumyceten nach ihren geeigneten Stickstoffquellen. Er unterscheidet 1. Nitrogenpilze, 2. Ammon-, Nitrit-, Nitratpilze, 3. Amid- und Peptonpilze. Die an unsere Pilze zu stellende Frage lautet demnach:

1. Assimilieren die Orchideenpilze den freien Stickstoff der Luft?

2. Verwerten sie anorganische Stickstoffverbindungen, oder können sie

3. nur mit organischen Stickstoffquellen gedeihen.

Die erste Frage ist von einigen Forschern, vor allen von Janse aus biologischen Gründen bejaht worden. Diese Theorie der Assimilation wird uns erst im zweiten Teile unserer Arbeit beschäftigen; hier handelt es sich lediglich um die Feststellung der physiologischen Befunde.

Aus stickstofffreiem Substrat (gut ausgewachsene Kieselgallerte mit mineralischer Nährlösung und Rohrzucker dialysiert) wachsen die Orchideenpilze nicht mehr, als die bei der Überimpfung auf das Substrat mitgebrachte Stickstoffmenge erwarten ließ. Die entstehenden Kulturen haben einen Radius von wenigen mm; ihre äußersten Hyphenenden sterben ab.

Der Abteilung der Ammon- Nitrit- Nitratpilze sind unsere Orchideenpilze zuzurechnen, da sie in diesen Salzen genügende Stickstoffnahrung zur Sporenbildung finden und wenigstens auf Ammonsalzen sehr üppig gedeihen.

Organische Stickstoffverbindungen werden verschieden gut assimiliert. Pepton löst einen wuchernden Wuchs aus.

Zur Art und Weise der Verwertung organischer Stickstoffquellen ist hier zu bemerken, daß alle Pilze proteolytische Enzyme besitzen, wie sich solche durch Lösung der Gelatine in Gelatinekulturen demonstrieren.

Das Verhalten der Pilze gegen eine Anzahl von verschiedenen Stickstoffquellen ist auf folgender Tabelle verzeichnet, die das Resultat mehrfach angestellter Kulturen ist.

Als Kohlenhydrat wurde Stärke gegeben. (Mercks Amylum solubile.) Die genauen Angaben für die Nährflüssigkeit sind: Stickstofffreie „M. N." Nährlösung nach A. Meyer, neutralisiert. 2 Proz. Amylum solubile und eine 0,014 g Stickstoff entsprechende Menge der betreffenden Stickstoffquelle pro 100 cm.

Die Kulturen wurden in Reagiergläsern angestellt und nach je 3 Monaten kontrolliert.

Die auf nachfolgender Tabelle verzeichneten Pilze gehören ihrem Wuchs nach zu 2 Gruppen. O. labiatae und O. chlor-

anthae F. bilden nach kurzer Zeit eine Decke über der Flüssigkeit und wachsen mit wolligem Mycel an der Wand des Reagierglases in die Höhe.

Die 5 anderen Pilze bilden unter dem Flüssigkeitsspiegel eine schwer zerteilbare Flocke und erreichen diesen nie.

Nach der Art ihrer Stickstoffbedürfnisse können wir 3 Gruppen unterscheiden.

1. O. labiatae wächst
   sehr gut auf Pepton, Ammoniumcitrat, saurem Kaliumammoniumphosphat und Kaliumnitrat;
   gut auf Asparagin, saurem Ammoniumtartrat, Ammoniumchlorid und Ammoniumnitrat;
   schlecht auf Harnstoff, Monoammoniumphosphat und Calciumnitrat.

2. O. chloranthae F. wächst;
   sehr gut auf Pepton, Ammoniumnitrat, Asparagin und Monoammoniumphosphat;
   gut auf Harnstoff, saurem Ammoniumtartrat, saurem Kaliumammoniumphosphat, Ammoniumchlorid, Ammoniumnitrat und Calciumnitrat.
   schlecht auf Kaliumnitrat.

3. O. arachnitis, apiferae, sambucinae, fuscae und musciferae wachsen
   sehr gut auf Pepton;
   gut auf Asparagin, Harnstoff, Ammoniumchlorid, Ammoniumnitrat.
   Teils gut, teils schlecht auf Kaliumnitrat und Monoammoniumphosphat;
   schlecht auf Ammoniumnitrat, saurem Ammoniumkaliumphosphat und Kaliumnitrat.
   Überhaupt nicht auf saurem Ammoniumtartrat.

Der Vergleich der Gruppen 1 und 2 mag uns zuerst beschäftigen. Die Unterschiede wollen wir zum Teil durch biologische Momente zu verstehen suchen.

Tabelle I.

a = Wuchsintensität, ++ normal, + schwach, +++ stark, ++++; +++++ sehr stark, o nicht gewachsen.
b = Alkalescenz: n neutral oder sehr schwach alkalisch, s schwach sauer, ss stark sauer.
c = Jodprobe: blau, violett, rot, braun, gelb, farblos.

Pilze		labiatae	chloranthae F.	arachnitis	apiferae	sambucinae	fuscae	musciferae	Kein Pilz
1. 0,053 %	a	++	++	++	++	++	++	++	
NH_4Cl	b	ss	ss	s	s	s	s	s	s
Ammoniumchlorid	c	gelb	gelb	violett	rot	violett	violett	violett	violett
2.	a	+	+	+	+	+	+	o	
Keinen	b	n	n	n	n	n	n	n	n
Stickstoff	c	violett	violett	blau	blau	blau	blau	blau	blau
3. 0,04 %	a	++	++	++	++	++	++	++	
NH_4NO_3	b	ss	ss	s	s	s	s	s	n
Ammoniumnitrat	c	rot	braun	violett	violett	violett	violett	violett	blau
4. 0,101 %	a	+++	+	+	+	+	+	+	
KNO_3	b	n	n	n	n	n	n	n	n
Kaliumnitrat	c	gelb	violett	blau	blau	blau	blau	blau	blau
5. 0,082 %	a	+	++	++	++	++	+	+	
$Ca(NO_3)_2$	b	s	s	s	s	s	s	s	n
Calciumnitrat	c	braun	rot	violett	violett	violett	blau	blau	blau
6. 0,053 % NH_4Cl	a	++	++	+	++	++	++	++	
+ 0,101 KNO_3	b	s	ss	s	s	s	s	s	s
Ammoniumchlorid + Kaliumnitrat	c	rot	rot	violett	violett	violett	violett	violett	violett

7. 0,115 %	a	+	+++	+	+	+	++	++	
$(NH_4)H_2PO_4$	b	ss	ss	ss	ss	ss	ss	ss	ss
Monoammonium-phosphat	c	violett	braun	violett	violett	violett	violett	violett	blau
8. 0,209 %	a	+++	++	+	o	o	+	+	
NH_4HKPO_4	b	ss	ss	n	n	n	n	n	n
Saur. Ammonium-Kaliumphosphat	c	gelb	gelb	violett	blau	blau	blau	blau	blau
9. 0,167 %	a	++	++	o	o	o	o	o	
$(NH_4)HC_4H_4O_6$	b	ss	ss	ss	ss	ss	ss	ss	ss
saur. Ammoniumtartrat	c	rot	violett	blau	blau	blau	blau	blau	blau
10. 0,082 %	a	+++	++++	+	+	+	++	o	
$(NH_4)C_6H_5O_7$	b	s	n	s	s	s	s	s	s
Ammoniumcitrat	c	farblos	gelb	blau	violett	violett	violett	blau	blau
11. 0,03 %	a	+	++	++	++	++	++	++	
CON_2H_4 Harnstoff	b	n	ss	n	n	n	n	n	n
	c	gelb	gelb	violett	violett	blau	violett	violett	blau
12. 0,49 % Asparagin	a	++	+++	++	++	++	++	++	
$C_4O_3H_8N_2$	b	s	s	s	n	n	s	n	n
	c	gelb	gelb	violett	violett	violett	violett	violett	blau
13. 0,14	a	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	
Pepton	b	s	s	s	s	s	s	s	n
e carne*)	c	gelb	braun	violett	rot	violett	violett	violett	blau

*) Anmerkung: Pepton e carne von Merck, eine Analyse lag nicht vor, der Stickstoffgehalt wurde zu 10 Proz. angenommen.

O. labiatae, ein aus einer epiphytischen Orchidee isolierter Pilz (wohl kein Keimungspilz) erscheint noch wenig spezialisiert. Saure Salze vermag er ebenso gut zu verwerten wie neutrale. Auf den meisten ist sein Wuchs ein üppiger.

O. chloranthae F., der aus der auf schwach saurem Humus im Walde vorkommenden Platanthera chlorantha isoliert ist, zeigt ebenfalls keine Empfindlichkeit gegen Säure. Beide Pilze wachsen z. B. sehr gut auf Ammoniumcitrat, gut auf saurem Ammoniumtartrat.

Ammoniumnitrat und Ammoniumchlorid sind ebenfalls für beide gleich. Ein wesentlicher Unterschied tritt beim Kaliumnitrat auf. Der Epiphytenpilz O. labiatae gedeiht ganz prächtig auf diesem am Standort vielleicht vorhandenen Salz, der Humuspilz weiß damit nichts anzufangen im Zusammenhang mit der Tatsache, daß im Humus fast keine Nitrate vorkommen.

Das Nitrat des Calciums ist für den Epiphyten aus naheliegenden Gründen nicht von Bedeutung.

Die Gruppe 3 besteht lediglich aus Pilzen kalksteter Orchideen. Gegenüber den beiden vorigen zeigen die Pilze eine weitgehende Anpassung an die Neutralität des Substrates der Pflanze. In erster Linie wirken die Salze organischer Säuren, in zweiter die sauren Salze anorganischer Säuren schädlich. Beispiel sei der schlechte Wuchs auf Ammoniumcitrat, saurem Ammonium-Kaliumphosphat, Monoammoniumphosphat und die Unmöglichkeit des Wuchses auf saurem Ammoniumtartrat.

Ammoniumchlorid und -nitrat sind auch hier wieder gute Stickstoffquellen. Kaliumnitrat wird überhaupt nicht verwertet.[1]) Auch mit Calciumnitrat kann ein Teil der Pilze schlecht auskommen.

3. Stoffwechselprodukte.

Die vorliegende Tabelle hat außer der Rubrik a für die Intensität des Pilzwuchses noch zwei andere; b gibt den Stand

[1]) Das Vorziehen der Ammoniumverbindungen vor den Nitraten ist wie bekannt, bei Pilzen das übliche. Später wird sich zeigen, daß sich verpilzte Orchideenkeimpflanzen hierin ebenso verhalten.

der Alkaleszenz des Substrates nach der Kultur; zum Vergleich dient die Angabe der Alkaleszenz des Ausgangsmaterials in der letzten Spalte rechts. c zeigt an, bis zu welchem Grade die Umwandlung der Stärke mit Hilfe des Pilzes oder seiner Diastase vor sich gegangen ist und läßt einen Schluß zu auf die Ökonomie des Stoffwechsels.

Mit wenigen Worten sei auf beide Rubriken eingegangen.

Der Stand der Alkaleszenz wurde nach Beendigung der Kultur durch Lakmus bestimmt. Die Natur der betreffenden Säuren ist nicht festgestellt. Nur eine Prüfung auf Oxalsäure fand statt, zeitigte aber ein negatives Ergebnis, vielleicht entsprechend der sehr geringen Menge der verbrauchten Kohlenhydrate (cf. Rubrik c). Bei den Ammoniumsalzen der Mineralsäuren dürfte es sich um freigewordene Mineralsäuren handeln (cf. die Verhältnisse bei den Schimmelpilzen Nikitinsky 1904). bei den organischen Verbindungen, die selbst auch als Kohlenstoffquellen dienen könnten, ist ein Analogieschluß unmöglich.

Im allgemeinen ist die Säureproduktion auch auf den säurelosen Substraten, wie Asparagin, Pepton und Harnstoff der Wuchsintensität proportional. Bei den Kalkorchideenpilzen ließ sich die Säure häufig nur bei vorsichtigem Trocknen des verwandten Papiers feststellen.

Eine besonders ausgebildete Fähigkeit der Orchideenendophyten für die Lösung fester mineralischer Bodenbestandteile, die man hätte vermuten können, wird durch die geringe Säureproduktion unwahrscheinlich. Bestätigt wird dies durch folgende Versuche:

Kuntze berichtet 1906 über die Korrosionserscheinungen, die Pilze auf verschiedenen Mineralien hervorbringen. Er verwandte geschliffene und polierte Stücke von Apophyllit, Wollastonit, Marmor und Apatit und erzog darauf in Pflaumendekokt Penicilliumrasen. Nach 14tägigem Wuchs der Pilze konstatierte er an den abgespülten Gesteinen starke Korrosion der polierten Flächen.

In ähnlicher Weise goß ich auf polierte Stücke obiger Mineralien, die in Petrischalen trocken bei 160° sterilisiert waren, eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung aus: 1 g Stärke, 1,5 g Agar, 0,05 g Ammoniumnitrat und 100 ccm Mineralische Nährlösung nach A. Meyer. Die Kulturen der aufgeimpften Pilze wuchsen 3 Monate bei Zimmertemperatur; dann wurden die Mineralien abgespült. Das Resultat war fast vollständig negativ:

Es verursachten O. apiferae, O. araniferae J., O. chloranthae F. auf Apatit, O. apiferae, O. chloranthae F. auf Wollastonit, O. apiferae und O. chloranthae auf Apophyllit, endlich O. apiferae auf Marmor keinerlei makroskopisch oder mikroskopisch sichtbare Korrosion. Nur bei einer Kultur von O. chloranthae F. zeigte sich der Marmor an den Stellen, wo sich Sporensklerotien befunden hatten, schwach angegriffen.

Die Rubrik c der Stickstofftabelle gibt, wie schon bemerkt, an, bis zu welchem Grade die Verzuckerung der Stärke in den Kulturen vor sich gegangen ist.

Die Verfärbung wurde in 6 Stufen angegeben. Es zeigt sich auch hier eine Proportionalität zwischen Wuchsintensität und dem Grade der Umwandlung der Stärke. (Bei Ammoniumchlorid war die Stärke schon nach dem Sterilisieren teilweise verzuckert; die bei allen Pilzen der Kalkorchideen wieder kehrende Bezeichnung „violett“ ist hierauf zurückzuführen, die anderen Lösungen gaben alle nach der Sterilisation die reine Blaufärbung.

Da in allen Fällen die Verfärbung des Substrates bei der Jodprobe der bei der Diastase üblichen Farbenskala folgte, ist es unwahrscheinlich, daß die lösliche Stärke von den Pilzen anders als durch Vermittlung dieses Enzyms in Zuckerform aufgenommen wurde.

Die besonders bei den Pilzen der Kalkorchideen äußerst geringe Menge des veränderten Kohlenhydrats gibt, wie die Schwäche des Wuchses und die geringe Säureabscheidung,

ein deutliches Bild für die sehr wenig ökonomische Arbeit, die der Pilz leistet.[1])

D. Die Wirkung anderer physikalisch-chemischer Faktoren auf die Pilze.

1. Das Sauerstoffbedürfnis.

Da die Theorie der Anaerobiose von Janse (96) für die Mycorrhizapilze aufgestellt wurde, nahmen wir Kulturen in sauerstofffreier Atmosphäre vor. Kulturröhren wurden mit Salepdekokt beschickt, mit 3 Pilzen, O. apiferae, arachnitis und musciferae geimpft und in Buchner'sche Anaerobengläser gebracht, in denen alkalische Pyrogallollösung den Sauerstoff absorbierte. Nach etwa 2 Monaten, als die Kontrollkulturen dichte Mycelflocken entwickelt hatten, zeigte es sich, daß die anaeroben Kulturen gewachsen waren, sie bildeten aber nur kleine, 2—3 mm hohe Mycelflocken, nahmen daher etwa den zehnten Teil der Ausdehnung der aeroben Kulturen ein. Die Übergläser wurden nun geöffnet und Luft eingelassen. Nach einem weiteren Monat war kein Weiterwachsen eingetreten, die Kulturen erwiesen sich als abgestorben. Der Sauerstoffmangel hatte tödlich gewirkt.

Auf der anderen Seite ließ es sich leicht konstatieren, daß den Orchideenendophyten ein hohes Sauerstoffbedürfnis zukommt. In Reagenzglaskulturen auf festem, nicht schief erstarrtem Substrat dringt der Pilz höchstens 6—8 mm in die Tiefe; die tiefer liegenden Schichten des Substrats bleiben immer pilzfrei. Bei den Formen mit dichterem Wuchs über der Oberfläche des Substrats findet in Petrischalen an den Rändern, dort, wo die einzige Verbindung mit der Außenluft möglich ist, eine besonders starke Mycelentwicklung statt. Auch

[1]) Die erreichten Trockengewichte sind außerordentlich geringe. In Kulturen zu je 10 cm Flüssigkeit, die außer den Mineralsalzen der „M. N." Nährlösung (nach A. Meyer) 1/20 % NH_4CL und 2 % Rohzucker enthielten, waren sie für einige Pilze nach 3 monatlicher Kultur die folgenden: O. labiatae 0,0247; chloranthae F. 0,0564; araniferae R. 0,0043; sambucinae 0,0023; psychodis 0,0021; arachnitis 0,0015 g.

die Sporenbildung ist hier eine reichere, als innen auf der Platte. Am besten läßt sich dies Phänomen bei O. labiatae beobachten, weniger ausgeprägt, doch ähnlich bei O. chloranthae F. chloranthae G. und tenthrediniferae.

Die zum größeren Teil unter der Oberfläche des festen Nährbodens wachsenden Formen, senden immer vereinzelte Lufthyphen an die Oberfläche; viele von ihnen wissen sogar den Schalendeckel mit feinen fest anliegenden Hyphen zu überziehen.

2. Die Bedingungen der Sporenbildung.

Die Sporenbildung unterliegt bei den verschiedenen Formen nicht immer den gleichen Bedingungen. Organisierte Substrate sind im allgemeinen günstiger als die genau ihrem Inhalte nach bestimmten. Salep löst in geeigneter Konzentration immer Sporenbildung aus. Auf dem in den Plattenkulturen meistens verwandten Stärkeagar gelang es bei O. musciferae die Sporenbildung im Substrat fast gänzlich zu unterdrücken. Der Pilz ging jedoch sofort wieder dazu über, wenn er auf ein passendes Substrat, z. B. Salepagar übertragen wurde.

Daß wie in anderen Fällen auch bei den Orchideenpilzen (cf. Klebs 98) die gesteigerte Transpiration eine der Bedingungen der Sporenbildung ist, geht daraus hervor, daß alle größeren Sporenverbände, so die häufig auftretenden aus Sporen bestehenden Sklerotien an der Oberfläche des Substrates gebildet werden. Die gewöhnlich unter der Oberfläche des Substrates wachsenden Formen bilden bei sehr hohem Feuchtigkeitsgehalt der Luft in der Schale auch Sporenketten am Deckel.

Wesentlicher als chemische Zusammensetzung des Nährbodens und relative Feuchtigkeit, Faktoren, die unter den normalen Kulturbedingungen meist zur Sporenbildung geeignet sind, ist die Konzentration des Substrats.

Anfangs wurden die Pilze auf 3prozentigem Stärkeagar isoliert, bis ich die Nachteile dieses Ausgangssubstrates erkannte. Zwei Pilze, O. fuscae und psychodis, konnten auf

diesem Boden nicht zur Sporenbildung gebracht werden; auch auf Saleplösung gelang der Versuch nicht. Endlich auf Regenwasseragar stellte sich eine reichliche Sporenbildung ein. Bei O. fuscae wurde die einmal eingeleitete Sporenbildung in der Folge auch auf höher konzentriertem Substrat beibehalten.

Die Zeitdauer bis zur Sporenbildung ist bei den einzelnen Formen verschieden. Die raschwachsenden Formen, zugleich diejenigen, die mit fast allen gegebenen Nährböden zufrieden waren, z. B. O. labiatae, O. tenthrediniferae und O. chloranthae F. bewachsen zuerst die ganze Schale und erst nach Eintreten von Platzmangel stellen sich die Sporen ein. Es liegt nahe, die Ursache dieser Erscheinung in einer Erschöpfung des Substrats an Nahrung zu suchen. Viele Analogien bei anderen Pilzen berechtigen uns dazu (cf. Klebs 98). Bei den langsamer wachsenden Formen wird das Wachstum häufig schon lange, ehe die Schale ganz mit dem Mycel erfüllt ist, sistiert und es tritt reichliche Sporenbildung ein. Da in solchen Fällen kaum an eine Erschöpfung der Nahrung zu denken ist, liegt es nahe, die Ursache in der Anhäufung von Stoffwechselprodukten zu suchen.

Vielleicht entsprechend sehr geringen Temperaturschwankungen, vielleicht aber veranlaßt durch eine gesteigertem Wachstum nachfolgende Anhäufung von Stoffwechselprodukten findet man häufig eine kreisförmige Anordnung der Sporenverbände, die der Kultur durch zahlreiche konzentrische Kreise ein charakteristisches Aussehen verleiht. Das Licht, das in anderen Fällen, z. B. bei Monilia candida (cf. Moltz 06) mit Dunkelheit abwechselnd die Kreisbildung beeinflußt, ist hier, wie ein Experiment mit O. chloranthae G. bewies, nicht von Bedeutung. Zwei Kulturen des genannten Pilzes brachten wir in den Thermostaten in eine konstante Temperatur von 24°, nachdem sie bei Zimmertemperatur, die eine am Licht, die andere verdunkelt, beide die gleichen Sporenringe bildend, die Hälfte der Schale durchwachsen hatten. Auch hier trat keine Veränderung des Vorgangs ein. Obgleich hier die Tempera-

turschwankungen auf ein Minimum (ca. 0,2°) reduziert waren, zeigte sowohl die beleuchtete, wie die verdunkelte Kultur in denselben Abständen breitere oder schmälere Sporenringe bis an den Rand der Schale. Die verdunkelte Schale unterschied sich nur durch einen etwas höheren Wuchs der feinen wolligen Lufthyphen des Pilzes von der belichteten.

Besonders schön ist die Wirkung der Stoffwechselprodukte auf die Sporenbildung zu beobachten bei der Überimpfung des Pilzes auf ein neues Substrat. Die Übertragung des Pilzes wurde immer durch Ausstechen eines Stückchens des Nährbodens der alten Kultur und Auflegen auf den der neuen besorgt, da die einzelnen Sporen des Pilzes nicht auseinanderfallen. Bei den langsam wachsenden Pilzen der Kalkorchideen wachsen nun nur wenige Hyphen von dem Ausstich nach außen und bilden an ihren Seitenhyphen dicht gedrängte Sporenketten. Später, wenn die ungünstige Zone der aus dem übertragenen Stückchen diffundierten Stoffwechselprodukte überwunden ist, beginnen die Hyphen sich zu verzweigen, der Wuchs wird rasch und dicht und die Sporenbildung wird eingeschränkt.

Bei Gelatinekulturen kann manche Kultur ersticken, weil das übertragene Stückchen so viel proteolytische Enzyme mitbringt, daß die umgebende Gelatine sofort gelöst wird und der Ausstich mit einer kleinen anhängenden Pilzflocke wie in einem kleinen Näpfchen schwimmt. Die Hyphen der schwimmenden Flocke sind nun aber aus oben erwähnten, teils wohl auch aus mechanischen Gründen nicht befähigt, die Zone des flüssigen Substrats zu durchwachsen.

Resüme.

Die Ergebnisse unserer Orientierungskulturen mit Orchideenpilzen lassen sich kurz folgendermaßen zusammenfassen.

1. Die mit hyalinem, regelmäßig septierten, lockeren Mycel in, zuweilen auch auf und über dem Substrat wachsenden Pilze zeigen eine ausgesprochene Differenzierung in „Langhyphen“ und „Kurzhyphen“. Die Kurzhyphen können als Saughyphen und Sporenträger ausgebildet werden.
2. Alle untersuchten Pilze bilden mehr oder weniger lange Ketten von hyalinen oder schwach gefärbten dünnwandigen Konidien — hier meist Sporen genannt — die zu lockeren traubigen oder zu festeren sklerotischen Verbänden vereinigt sein können.
3. Alle Pilze haben die Fähigkeit zur Bildung von Fusionen verschiedener Art, so von Brücken und Kontaktanastomosen, doch nicht von Schnallenanastomosen.
4. Ein Teil der Pilze bildet auf und über dem Substrat durch ungleichmäßiges, meist bei der Sezernierung von Wasser eingeleitetes Wachstum einer oder mehrerer Hyphen meist spiralige später knäuelartige Gebilde, die durch Kontakt- und Brückenanastomosen gefestigt sind.
5. Die Hyphenglieder enthalten mehrere, die Einzelsporen je 2 Energiden.
6. Eine geschlechtliche Fortpflanzung wurde nicht beobachtet.

7. Die Kohlenhydrate werden als einfache oder höhere Zucker aufgenommen. Stärke wird in allen Fällen durch Diastase, in einigen der gebildete Zucker noch durch Maltase zerlegt. Sacharose wird teils invertiert, teils direkt aufgenommen. Glykoside werden gespalten und der entsprechende Zucker verwertet, da Emulsin selbst bei Nichtvorhandensein von solchen ausgeschieden wird. Von anderen Kohlenstoffquellen spaltenden Enzymen fanden sich in einem Falle Tyrosinase, in einem anderen Cytasen.
8. Die Assimilation des freien Stickstoffs scheint bei den Orchideenendophyten zu fehlen, weil sie auf stickstofffreiem Substrat nicht zu gedeihen vermögen.
9. Von Stickstoffquellen werden die organisierten, wie Pepton und Salep bevorzugt. Proteolytische Enzyme sind vorhanden. Von den Mineralsalzen eignen sich die Ammoniumverbindungen besser, wie die Nitrate. Kaliumnitrat ist für die Pilze der Kalkorchideen gänzlich unbrauchbar.
10. Die Säureproduktion ist sehr gering. Kalkorchideenpilze werden schon durch sehr geringe Säuremengen insbesondere organischer Säuren stark geschädigt. Eine bemerkbare Korrosion von Gesteinen durch die Hyphen findet fast nie statt.
11. Der Stoffwechsel der Orchideenpilze ist als ein sehr wenig ökonomischer zu bezeichnen, wie es einem in den Zellen der höheren Pflanze lebenden und diese nicht schädigenden Pilze entspricht.
12. Die Orchideenpilze bedürfen in hohem Grade des atmosphärischen Sauerstoffs, bei längerer anaerober Kultur sterben sie ab.
13. Die Bildung der Sporen und der Sporensklerotien ist hauptsächlich abhängig von der Konzentration des Substrates, seiner Erschöpfung und der Menge der vorhandenen Stoffwechselprodukte.

II. Pilz und Pflanze.

Wie wir im ersten Teile sahen, ließen sich die Orchideenwurzelpilze unabhängig von der Pflanze bei einer ganzen Reihe von obligat mycotrophen Orchideen kultivieren. Wir hätten diesem Kapitel eigentlich ein anderes gegenüber setzen sollen, das berichtete über die Möglichkeit, Orchideen ohne die Mitwirkung der Pilze zur Entwicklung zu bringen, doch ist dies nie gelungen. Bernard hat die Samen zahlreicher tropischer Orchideen in Reinkultur gehalten, hat bei einigen Arten (Cattleya, Bletilla) die Anfangsstadien der Keimung, die Bildung der embryonären Knolle, die Entwicklung der ersten Blätter, des Sprosses und der Wurzelhaarpapillen beobachten können, doch trat immer noch vor Anlage der ersten Wurzel ein Stadium des Stillstandes und der Degeneration ein. Bei einheimischen Orchideen wurde pilzunabhängige Keimung überhaupt nicht aufgefunden.

Das pilzfreie Vorkommen einzelner erwachsener Pflanzen von Epipactis rubiginosa, E. latifolia, E. palustris und Cypripedium calceolus haben Mollberg und Stahl (84 u. 00) erwähnt, es fehlten diesen Arten nach Stahl in einem gewissen Grade auch die charakteristischen Eigenschaften mycotropher Gewächse. In weitaus den meisten Fällen finden sich aber, wie dies aus unseren zu allen Jahreszeiten vorgenommenen Untersuchungen hervorging, wenigstens eine Anzahl der Wurzeln dieser Orchideen verpilzt. Bei Samen dieser weniger mycotrophen Formen in steriler Kultur trat ebensowenig Keimung

ein, als bei denen regelmäßiger verpilzter Orchideen. Die Abhängigkeit der im späteren Leben vielleicht weniger auf die Pilze angewiesenen Pflanzen von diesen, ist hier bei der Frage nach der Keimungsgeschichte ebenso evident, wie bei den immer mit dem Pilz zusammen gefundenen, den obligat mycotrophen Stahls. Da es somit keine ohne die Hilfe des Pilzes erwachsene Pflanzen zu geben scheint, und die pilzfreie Kultur dieser noch nicht gelungen ist, können wir sie auch nicht den freierzogenen Pilzen gegenüberstellen und wollen beide daher in ihrer Vereinigung betrachten, und ihren Entwicklungslauf verfolgen.

A. Die Keimpflanzen der Orchideen und ihr Verhältnis zum Wurzelpilz.

1. Einheimische Orchideen.

Die ersten Keimpflanzen einiger Orchideenarten fand im Jahre 1804 Salisbury; er bildet sie von Orchis morio ab. Aus den Abbildungen ist zu ersehen, daß die jungen Stadien wurzellose Pflänzchen darstellen, die allein aus einer kreiselförmigen, an der Spitze mit wenigen Blattanlagen oder Blättchen versehenen Knolle bestehen. Salisbury bewies damit die Unrichtigkeit der bis dahin allgemein bestehenden Ansicht, daß die Samen der Orchideen überhaupt nicht keimungsfähig seien. Irmisch folgte 1850 mit der von Platanthera chlorantha und beschrieb 1853 die Keimpflanzen von Orchis militaris, Listera ovata, Neottia nidus avis, Epipactis rubiginosa, E. microphylla, Spiranthes autumnalis, Cypripedium calceolus, Epipogon aphyllum und Corallorhiza innata. Die Verpilzung der jüngsten wurzellosen Keimlinge hat Irmisch erwähnt, aber noch nicht richtig gedeutet; er spricht von klumpigen Massen, die in den subepidermalen Schichten die Zellen ganz ausfüllen und mit Pilzhyphen in Verbindung stehen. Das Vorkommen derselben Gebilde in den Wurzeln der erwachsenen Pflanzen war ihm bekannt. Es dürfte im Interesse der kommenden Betrachtung

über den zwischen Keimung und Pilzinfektion bestehenden Zusammenhang von Wichtigkeit sein, die ersten Stadien der Keimung bei einigen Typen zu betrachten.

Von Ophrydeen fand Irmisch die Keimlinge der Orchis militaris im Oktober von Samen desselben Jahres stammend. Sie besaßen die Form kleiner kreiselähnlicher Knöllchen, von „1—2 Linien“ Länge, die an dem dem Suspensor des Embryo entsprechenden Pole spitz zulaufen, an dem entgegengesetzten inmitten einer Abflachung die ersten Blattanlagen tragen. Das farblose, mit einem axilen Gefäßstrang versehene Gebilde, die „Keimachse“ (Axis embryonalis), wie Irmisch sagt, ist mit Wurzelhaaren reich versehen und lebt in der ersten Zeit in Unabhängigkeit vom Taglichtes unterirdisch. In ihm befinden sich in den Zellen zwischen Leitbündel und epidermalen Schichten jene erwähnten klumpigen Massen, die sich mit Jodlösung gelblich färben, in denen um das Gefäßbündel feinkörnige Stärke.

Ältere Keimlinge besitzen ein grüngefärbtes Blättchen, das über die Erde hervorragt. Oberhalb oder unterhalb eines unter diesem stehenden Scheidenblattes bricht aus der Keimachse eine am Grunde von der „Hüllhaut“ umgebene Wurzel hervor. Ist sie ausgebildet, beginnt jener für die Ophrydeen charakteristische Prozeß der Knollenbildung. Unterhalb der Insertion des ersten oder zweiten Blattes wird endogen eine einer Seitenwurzel homologe Anschwellung bemerkt, die durch einen eigentümlichen Wachstumsvorgang am Ende eines von dem Gewebe der Keimachse und des ersten Blattes gebildeten Kanals, die Terminalknospe mit sich ziehend, tiefer in die Erde geschoben wird. Dabei durchbricht sie das über ihr liegende Gewebe der Keimachse und wenn sie oberhalb der Insertion des ersten Scheidenblattes angelegt wurde, auch dieses. Im Juni des nächsten Jahres ist dieser Vorgang vollendet. Der untere Teil der in die Erde geschobenen Knospe ist zu einer mit zentralem Gefäßbündel versehenen Wurzelknolle geworden; die embryonale Knolle ist abgestorben, sie hat ihre Funktion

erfüllt. Die ursprüngliche Terminalknospe bildet jetzt mit einer Seitenwurzel, denn als solche ist nach Irmischs exakter Untersuchung der Auswuchs zu betrachten, eine neue sekundäre Achse, die noch im selben Herbst Wurzeln, im Sommer Blätter entsendet, um im folgenden Herbst einer neuen, seitlich entstandenen Wurzelknolle in die Tiefe zu folgen. Den Winter überdauert wieder diese allein, die alte stirbt mit ihren Wurzeln gegen Ausgang des Sommers ab.

Vom dritten Jahre an, bei schwachen Exemplaren auch erst später entwickelt sich die Terminalknolle an einer Achselknospe der Hauptachse, und zieht sie mit in die Tiefe, während jetzt erst der Jahre überdauernde primäre Vegetationspunkt zu Grunde geht. Das sympodiale Wachstum, das wir bei den erwachsenen Pflanzen kennen, hat eingesetzt.

Die von Fabre (56) beschriebene Keimung der Ophrys apifera verläuft ganz analog, nur ist hier die Bildung einer bei dem Auswachsen der Knospe über der Terminalknolle entstehenden knollig verdickten Achsenanschwellung, Fabre nennnt sie „tubercule basilaire", die Regel.

Später ist es dann Beer (63) gelungen, an den auf feuchtem Boden ausgestreuten Samen von Orchis variegata und Gymnadenia conopea die ersten Stadien der Keimung zu beobachten. Der Embryo des Samens schwillt in wenigen Tagen zu einem Keimknöllchen an, das „dem freien Auge als kaum sichtbares fahlbräunlich-grünes Kügelchen erscheint". Nach 8—10 Tagen bildet sich am Scheitelpol des kreiselförmig gewordenen Pflänzchens die erste Blattanlage, der noch 2 oder 3 scheidenförmige Blättchen folgen. Mit der Anlage des dritten oder vierten Scheidenblattes bricht am oberen Ende der Keimachse die erste Wurzel hervor, die in den Boden dringend durch eine außerordentlich starke Verkürzung die Keimpflanze in die Erde hineinzieht. Gegen Ende der ersten Vegetationsperiode beginnt die Anlage der ersten Terminalknolle.

Diese Befunde Beers verdienen besonderes Interesse einmal, weil sie uns als eine wertvolle Ergänzung zu Irmischs

Angaben dienen, zum anderen, weil es hier zum ersten und bis jetzt einzigen Male gelungen ist, eine künstliche Aussaat einheimischer Orchideen zur Keimung zu bringen. Trotz sehr umfangreicher und vielfach variierter Versuche mit Samen einheimischer Orchideen, denen der Wurzelpilz der betreffenden Pflanze — von dem Beer nicht einmal wußte — beigegeben war, gelang mir dies bisher nie.

Wir sind der Ansicht, daß die Keimung an der Erdoberfläche unter leichtem Ergrünen der Keimachse, die nach den Angaben Beers für die normale gehalten werden könnte, in der Natur nicht die gewöhnliche sei. Salisbury hat zahlreiche Keimpflanzen von Orchis mascula unter der Erdoberfläche in Regenwurmlöchern gefunden. Fabre traf im März sehr zahlreiche von Samen des vorigen Jahres stammende Keimlinge von Ophrys apifera unter einer dünnen Humusschicht am Fuße der Mutterpflanzen an und erwähnt die Farblosigkeit der Keimknolle und des ersten Schuppenblattes (Cotyledo bei Fabre) ausdrücklich.

Noël Bernard (02) brachte als erster genauere Angaben über die Art der Verpilzung der Ophrydeenkeimlinge. Er untersuchte sie bei Platanthera chlorantha (Orchis montana) und bildet die älteren Stadien übereinstimmend mit Irmisch (50) ab.

Die Embryonalknolle ist wie die Wurzeln immer verpilzt. Die erste und die später neu entstehenden Terminalknollen finden sich im Anfang immer frei von Pilzmycel, werden aber zum Unterschiede von denen der erwachsenen Pflanzen am Ende ihrer Funktion als Speicherorgane infiziert und verhalten sich dann wie echte Wurzeln, eine Erscheinung, die uns die stärkere Verpilzung der Keimpflanzen demonstriert. Über die Verpilzung der bei Platanthera vorkommenden basalen, mit Niederblättern versehenen Rhizomknolle finden sich leider keine Angaben. Aus Befunden, die ich an den in Jena häufigen Keimlingen der Orchis mascula hatte, geht ihre Bedeutung wenigstens für diese Orchidee mit einiger Sicherheit hervor.

Während alle übrigen Verhältnisse mit den Angaben der Autoren stimmten, insbesondere die Terminalknollen sich erst im August nach Anlage der neuen als verpilzt erwiesen, wurden die über den neuen Knollen entstandenen Rhizomknollen schon im Herbst infiziert und sicherten den während der Wintermonate wurzellosen Keimpflanzen für ihre im Frühjahre hervorbrechenden Wurzeln den Pilz. Die ausgewachsenen Pflanzen deuten durch ihr verpilztes Rhizom noch die Basalknolle an, obgleich die schon im August entstehenden Wurzeln den Pilz von den zu Grunde gehenden alten übernehmen könnten.

Bei den Neottien Listera ovata, Epipactis rubiginosa, E. microphylla ist nach Irmisch die Embryoachse analog der der Ophrydeen gebaut. Ihre Entfaltung ist aber bedeutend einfacher, als bei diesen. Sie verlängert sich nach oben in ein Rhizom, das zuerst farblose, dann grüne Blätter trägt und Seitenwurzeln. Die Sprosse für die nächsten Jahre entstehen als einfache Seitensprosse gemäß dem sympodialen Wuchs der erwachsenen Pflanze. Außer der embryonalen, jedenfalls verpilzten finden sich keine Knollen.

Ähnliche Verhältnisse finden sich bei der von Beer (63) beschriebenen Keimung von Goodyera repens nur mit dem Unterschiede, daß das Wachstum des Hauptsprosses erst mit der Ausbildung des Blütenstandes erlischt. Corallorhiza und Epipogon besitzen ebenfalls die verdickte Keimachse. Aus deren Seitensprossen entspringen die für beide charakteristischen Formen des unterirdischen mit vergänglichen Niederblättern versehenen Rhizoms. Die Pflanzen kommen hier nicht vor ihrer Blütezeit über die Erde. In den Embryoachsen fand Irmisch ebenfalls jene bräunlichen, klumpigen Massen, die er nicht zu deuten wußte.

Die Forschung nach der Herkunft dieses merkwürdigen Zellinhaltes hatte schon die heute allgemein bekannten Ergebnisse gezeitigt; man wußte, daß die Klumpen in den Zellen der Pflanze durch die Wirkung der verdauenden Eigenschaften des Plasma auf den endophytischen Pilz, denselben, den

Irmisch schon gesehen hatte, entstanden, als die Annahme eines symbiotischen Verhältnisses zwischen Pilz und Pflanze Bernard (99) zu Untersuchungen führte, die mit einem Male helles Licht auf die bis dahin dunkle Biologie der Keimung warfen. Bernard behandelte die Keimungsgeschichte einiger Orchideen mit den Irmisch noch verschlossenen Mitteln moderner Technik und stellte die von ihm aus biologischen Gründen erwartete Abhängigkeit der Keimung von der Pilzinfektion fest.

Von Neottia nidus avis, deren ältere Keimpflanzung schon Irmisch beschrieben hatte, fand Bernard die allerjüngsten Stadien, an denen die Einwanderung des Pilzes ohne weiteres zu erkennen war. Die Samen eines vom vorhergehenden Jahre stammenden Blütenstandes waren in den Kapseln gekeimt, weil der umgefallene und unter das feuchte Laub geratene Stengel für den hindurchwachsenden Pilz die Brücke zu den Samen gebildet hatte. Die äußerlich glatten nicht mit Wurzelhaaren versehenen Pflänzchen hatten keulenförmige Gestalt, an dem spitzen Ende hing noch die Samenschale an. An Querschnitten ließ sich erkennen, daß sie aus 3 Arten von Gewebe bestanden; einer Innenschicht von Zellen mit feinen Wänden und reichem Stärkegehalt, einer mittleren pilzinfizierten, und einer epidermalen pilz- und stärkefreien Schicht Die Struktur der Keimlinge erwies sich somit als eine der des Rhizoms der erwachsenen Pflanze homologe. Bernards Versuche, die Samen der Neottia ohne Pilz zur Keimung zu bringen, waren stets mißlungen, er sah sich also berechtigt, die Pilzinfektion der Samen als für die Keimung notwendig zu bezeichnen.

Die Verdickung des Samenembryos zur Keimachse schien ihm durch die Verpilzung direkt verursacht. Dieser Umstand und analoge Erscheinungen bei der Keimung exotischer Orchideen veranlaßten ihn, nicht nur das Anschwellen des Samenembryo, sondern auch die Bildung anderer Knollen insbesondere der der Ophrydeen auf Rechnung des infizierenden Pilzes zu

setzen. Das Studium der Knollenbildung bei Nichtorchideen führte ihn weiter zu der, wie es scheint, heute schon weitverbreiteten Anschauung der Abhängigkeit aller Knollenbildungen von parasitischen Pilzen. Diese seine Hypothese wird uns später im allgemeinen Teil beschäftigen. Wir wollen dann untersuchen, wieweit eine Verallgemeinerung der aus der Erscheinung der embryonären Knollenbildung gezogenen Erfahrung möglich, und wie sich eine derartige kausal-physiologische Erklärung der Knollenbildung mit der biologisch-teleologischen Fragestellung vereinigen läßt.

2. Exotische Orchideen.

Die Samen exotischer Orchideen wurden schon frühzeitig zu Keimungsversuchen verwandt. Salisbury (1804) konstatierte die Keimung der Samen von Bletilla. Irmisch (53) beschreibt einen Keimling von Sobralia macrantha nach einer ihm von Hofmeister überlassenen Zeichnung; Schacht (54) bemerkt von den Samen einer Pleurothallis, daß sie einige Wochen nach der Aussat ergrünten. Ed. Prillieux und A. Rivière (56) untersuchten genau die Keimungsgeschichte von Angraecum maculatum; sie bildeten die pilzinfizierte Schicht ab und sprechen von einer „Masse opaque jaunâtre", die die betreffenden Zellen erfüllt. Beer berichtet (63) über die Keimung von Sarcanthus rostratus, die insofern von Interesse ist, als die embryonäre Achse entsprechend dem monopodialen Wuchs der Pflanze direkt in die Hauptachse übergeht, zum Unterschied von den sympodialen Orchideen, wo die Keimachse bei der Entwicklung des ersten Sproß-Bulbus erlischt. Pfitzer schreibt (82) über die Keimung verschiedener anderer Gattungen, so über Zygopetalum, Epidendrum, Laelia und Cattleya.

Bei allen diesen Formen geht übereinstimmend eine embryonäre Knolle aus dem Samen hervor, die wir daher als ein allen Orchideen im Jugendstadium zukommendes Organ betrachten dürfen. Daß ihre Entstehung bei den exotischen

Orchideen eine der bei den einheimischen analoge sei, hätte sich aus gewissen Wahrnehmungen der Praxis schon damals ergeben können.

In der Hortikultur war die Abhängigkeit der Keimung der Orchideensamen von gewissen scheinbar ganz mysteriösen Dingen schon lange bekannt. Aussaaten gingen häufig nur auf einem Substrat auf, auf dem schon einmal Orchideen gewachsen waren, oder noch wuchsen. Heute noch werden (Ledien 07) Odontoglossumsaaten auf die Töpfe der Mutterpflanzen gemacht. Daß das Vorhandensein der in den Keimpflanzen und in den Wurzeln der Orchideen angetroffenen Pilze eine notwendige Voraussetzung der Keimung sei, wurde gemutmaßt, aber der skeptischen Haltung der Praktiker wegen kaum ausgesprochen. Bernards Arbeit des Jahres 1904 machte diesem Skeptizismus ein für allemal ein Ende.

B. Die Synthese der Symbiose.

1. Bernards Methode.

Im Jahre 1903 veröffentlichte Bernard die ihm gelungene Synthese der Pilz-Symbiose der Orchideen. Später (04) beschreibt er genau die Infektion der Orchideensamen durch den Wurzelpilz und die dadurch ausgelöste Keimung. Mit diesen seinen „Recherches expérimentales sur les orchidées“ haben wir uns jetzt etwas zu beschäftigen. Bernard beginnt nach einigen vorausgeschickten geschichtlichen Bemerkungen und einer kurzen Darlegung seiner Auffassung von der Orchideensymbiose mit einer Umgrenzung seines Stoffes: „Je me suis proposé:

1. De faire de semis de graines d'Orchidées dans les conditions d'asepsie rigoureuse, sur des milieux sterilisés convenables à la culture de ces plantes.

2. D'isoler en culture pures et d'intifier avec certitude les champignons endophytes de ces orchidées.

3. De comparer, pour chaque espèce, le sort de ces semis aseptiques à celui des semis contaminés par l'endophyte."

Die Aussaaten der Orchideensamen machte er in der Weise, daß er die der außen aseptisch gemachten Kapsel entnommenen Samen in Gläsern mit Nährlösung auf einen Wattebausch, oder auf ein gelatinöses Substrat brachte. Die Nährlösung wurde aus 2 g Salep und 1000 g Wasser bereitet. Erwiesen sich die Samen als nicht fremdinfiziert, wurden sie auf neue Gläser übertragen, die eine Hälfte mit dem rein kultivierten Pilz geimpft, die andere blieb steril. Sämtliche Kulturen wurden im Thermostaten bei einer Temperatur von 25 Grad und in diffusem Tageslicht gehalten.

Der betreffende Wurzelpilz war der aus Keimpflanzen von Cattleya Mossiae × Laelia purpurata isolierte, dessen wir bereits im vorigen Kapitel erwähnten.

2. Die Experimente Bernards.

Die Samenkeimung von

Cypripedium spicerianum × insigne Sanderae,

beschreibt Bernard zuerst.

Der wie bei fast allen Orchideensamen wenigzellige acotyle Embryo besteht an dem der Mikropyle zugekehrten Ende, dem „Suspensorpol" (pôle suspenseur) aus relativ großen Zellen, an dem entgegengesetzten „Scheitelpol", (pôle végétatif) aus kleineren mit Reservestoffen (Eiweiß) erfüllten Zellen.[1]) Einen Suspensor trägt der Same nicht.

Die Samen in pilzfreier Kultur verdickten sich schwach, ohne sich weiter zu verändern. Die mit dem Pilz infizierten keimten sofort. Der Embryo des Samens wächst zu einer kleinen, fast kugeligen Knolle aus, die in der ersten Woche die Samenschale zerreißt, im ersten Monat Wurzelhaare bildet und ergrünt, in dem nächsten Blätter anlegt und im vierten die erste Wurzel entsendet.

[1]) Der Samen enthält auch fettes Öl, das aber beim Einbettungsverfahren gelöst wird, und wohl deshalb Bernard's Beobachtung entging.

Die Vorgänge im Innern des Keimlings sind folgende: Der Pilz dringt in die großen Zellen am Suspensorpol ein, vermutlich chemotropisch angelockt. Innerhalb der ersten 14 Tage nach der Infektion entstehen große Stärkekörner in den Zellen des Samens. Der Pilz nimmt nach und nach die Zellen des mittleren und unteren Teiles des Embryo ein, ohne jedoch die stärkegefüllte Epidermis noch einmal zu berühren. Zellteilungen finden sich nur am vegetativen Scheitelpol, wodurch der Keimling seine obligate Kreiselform erhält. In der inneren Zone des Pilzgewebes findet reichliche Klumpenbildung statt, in der äußeren infiziert der Pilz neue Zellen und in allen verschwindet die Stärke im Augenblick, wo er eindringt.

Die Entwicklung von Cypripedium in dieser ersten Periode gleicht der von Neottia durch den Mangel an Wurzelhaaren, das Fehlen des Chlorophylls und den Überfluß an Stärke.

Die zweite Periode beginnt mit der scharfen Umgrenzung der infizierten Schicht. In der Achse des Keimlings wächst der Pilz nicht mehr nach oben weiter, nur noch an der Peripherie finden sich frisch infizierte Zellen. Mit der Anlage einer aus mehreren Blattanlagen bestehenden Knospe geht einher das Erscheinen des Chlorophyll und die Ausbildung der ersten Trichome. Der Pilz wächst in der Folge in der Form eines Hohlzylinders weiter, inmitten dessen das erste Gefäßbündel angelegt wird. Die Trichome entstehen an den Epidermiszellen noch bevor der Pilz das darunterliegende Gewebe erreicht. So lange sie jung sind, bleiben sie verschont, später scheinen Hyphen von innen nach außen durch sie hindurch zu wachsen. Der Endpunkt der zweiten Periode im vierten Monat wird durch das Hervorbrechen der ersten Wurzel bezeichnet.

Die dritte Periode charakterisiert sich durch die definitive Beschränkung der Infektion, die Verlängerung der Achse und die Ausbildung weiterer Blätter und Wurzeln. Die erste Wurzel wächst fast durch das infizierte Gewebe der Keimknolle

hindurch, wird aber trotzdem erst außen vom Substrat aus infiziert.

Die histologischen Vorgänge im keimenden Samen sind folgende: Die Kerne des Meristems unterscheiden sich nicht von denen des trockenen Samens, nur besitzen sie einen Nucleolus. Kommt die Zelle später in Berührung mit dem pilzführenden Gewebe, werden sie stark hypertrophiert; wird endlich die Zelle infiziert, erreichen sie den doppelten Durchmesser. Sofort verschwindet die Stärke, die während des Wachstums in der Zelle gebildet wurde. Die Hyphen erfüllen die Zelle bald in dichtem Knäuel und werden mit dem Plasma zu einer dem Kerne angelagerten degenerierenden Masse. In diesem Stadium bilden die Klumpenzellen ein totes Gewebe. Die Kerne degenerieren ebenfalls; das Chromatin vereinigt sich zu einem sternförmigen Komplex, der von der Kernmembran durch einen hellen Ring getrennt ist und oft deformiert sich der Kern in diesem Augenblick. In dem Streit zwischen Plasma und Pilz sind beide Gegner unterlegen.[1])

Als zweites Beispiel beschreibt Bernard die Keimung der Samen von

Cattleya Mossiae×Laelia purpurata.

Der erste wichtige Unterschied von der von Cypripedium ist dieser: Die Samen entwickeln sich bis zu einem bestimmten Stadium des Stillstandes. Je nachdem nun der Pilz hinzukommt oder nicht, wachsen sie weiter, oder gehen zu Grunde. In aseptischer Kultur wird aus dem 200—250 μ langen Embryo in der ersten Woche eine kleine grüne Kugel, die unten den hier vorhandenen Suspensor trägt. Später, nach etwa einem Monat, ist ein erhabener Ring an der Oberfläche entstanden,

[1]) Damit, daß Bernard hier die klumpenführenden Zellen für tot, den Kern für degeneriert hält, gerät er mit den Resultaten der cytologischen Arbeiten Shibatas und Magnussens in scharfen Widerspruch; vielleicht ist in dieser seiner Auffassung ein Teil des Grundes zu suchen, der ihn veranlaßt hat, sich zu den Skeptikern des Mutualismus zu begeben und die Pilzinfektion der Samen für eine notwendige Krankheit zu halten.

der mit Spaltöffnungen ausgestattet ist; am unteren Teile zeigen sich mehrzellige Papillen, die wenige kurze absorbierende Haare entsenden. In diesem Stadium bleiben die Pflänzchen stehen. Drei Monate nach der Aussaat tritt die kritische Periode ein. Findet jetzt keine Infektion statt, so beginnen die Pflanzen zu degenerieren und sind nach 5—8 Monaten meist von unten herauf abgestorben.

Die im kritischen Moment eintretende Infektion wirkt Wunder. Die Hyphen des Pilzes wachsen in wenigen Tagen in der Mitte des Suspensors eindringend, und ohne weiter die Epidermiszellen zu berühren, zur Basis des kreiselförmigen Pflänzchens, um sich dort auszubreiten; eine rapide Weiterentwicklung, eine „crise de croissance", ist das Zeichen der zweiten Periode.

Sofort nach der Infektion beginnen die absorbierenden Haare sich rasch zu verlängern, die Kreiselform wird durch Dickenwachstum im oberen Teil des Keimlings mehr ausgeprägt, in der Achse bildet sich ein Leitbündel. Einzelne Zellen wachsen von 15 auf 50, ja auf 70 μ. Das Wachstum des Keimlings ist überhaupt mehr auf Rechnung der Volumvergrößerung der Zellen zu setzen, als auf die der spärlichen Zellteilungen. Die Wurzelhaare werden auch hier in höherem Alter vom Pilz durchwachsen. Die weitere Entwicklung gleicht der von Cypripedium: An der Embryoachse entstehen die Blätter und nach 7 Monaten die erste Wurzel. Werden die Samen statt in der kritischen Periode direkt nach dem Ergrünen infiziert, so folgt die Ausbildung der Wurzelhaare auf die Verdickung der embryonären Knolle und der ganze Entwicklungsgang verläuft analog dem von Cypripedium.

Die dritte Form der Keimung findet Bernard bei

Bletilla hyacinthina.

Die Aussaaten dieser Orchidee hat Bernard nur $5^1/_2$ Monate am Leben erhalten können, nach dieser Zeit starben unverpilzte und verpilzte Pflänzchen ab, da das Substrat aus-

trocknete und ein Umpflanzen mißlang. Die pilzfreie Kultur verlief folgendermaßen: Die weiter differenzierten und mit einem Cotyledo versehenen Samen keimen, ohne eine embryonale Knolle zu bilden, wie die Samen irgend einer anderen Monocotyle. Nach drei Monaten bestehen sie aus einer langen Achse mit etwa vier Blättern, zahlreichen haartragenden Papillen und vielen Haaren daran. Sie haben das kritische Stadium erreicht. In der Folge vergrößern sie sich nur noch langsam und sterben nach $5\,^1/_2$ Monaten von unten herauf ab, die im dritten Monat infizierten ebenfalls, doch haben sie bis dahin eine bedeutendere Größe erreicht und sind bewurzelt. Eine Knollenbildung ist auch bei ihnen nicht eingetreten, die Pilzinfektion ist durch die basalen Zellen der Papillen erfolgt, und das Mycel hat sich, in üblicher Weise das Gefäßbündel verschonend, in jedem infizierten Internodium ausgebreitet. Die embryonale Achse bleibt frei davon.

Bernard schildert uns also drei Grade der Abhängigkeit vom Wurzelpilz bei drei Orchideengattungen, bei Cypripedium Laelio-Cattleya und Bletilla. Cypripedium bedarf des Pilzes zur Keimung und zu seiner anfänglich saprophytischen Ernährungsweise, entsprechend seiner Eigenschaft als terrestrische Orchidee. Laelio-Cattleya ist einer selbständigen Entwicklung bis zu einem gewissen Grade fähig, kommt aber über die Bildung rudimentärer Trichome nicht hinaus. Dieses Verhalten erscheint dem spezialisierten von Cypripedium gegenüber als das normale; es entspricht dem am Licht vor sich gehenden Leben des Epiphyten, dessen pilzfreie Keimlinge durch eigene Assimilation unterstützt, sich länger lebend zu erhalten wissen, als der mit nur geringer Masse und dementsprechend wenig langer Keimfähigkeit begabte Same. Bei Bletilla ist die Pflanze nur in ihrer Wurzelbildung vom Pilze abhängig. Ihr hygrophiler Charakter kann die Ausbildung einer strengeren Anpassung an den Pilz verhindert haben, übereinstimmend mit der Feststellung Stahls von dem Zurücktreten der Verpilzung auf feuchten Standorten.

Im Jahre 1905 hat Bernard das Vorhandensein eines echten symbiotischen Gleichgewichtes zwischen Pilz und Pflanze durch die Resultate seiner Infektionsversuche nachweisen können. Samen von Phalaenopsis infizierte er mit drei verschiedenen Pilzen, dem von Cattleya, und zwei neuen aus Phalaenopsis und Odontoglossum kultivierten. Es ergaben sich drei Versuchsreihen mit folgendem Resultat:

1. Phalaenopsis-Samen — Cattleya-Pilz. Die Samen werden infiziert, doch findet keine Verdauung des Mycels seitens der Pflanze statt. Der Pilz tötet die Samen ab, es erfolgt keine Keimung.
2. Phalaenopsis-Samen — Phalaenopsis-Pilz. Die Samen werden infiziert, das Mycel wird ordnungsgemäß in Zellen der Pflanze verdaut und die Keimung geht nach dem Typus von Cypripedium vor sich.
3. Phalaenopsis-Samen — Odontoglossum-Pilz. Die Infektion der Samen findet statt, doch tritt eine zu energische Verdauung des Pilzes ein; die Keimung verläuft im Anfang wie üblich, der Zustand der Keimlinge bleibt jedoch nach der Ausbildung der Wurzelhaare stationär und eine Weiterentwicklung findet nicht statt.

Den drei Pilzen scheinen mithin drei Grade der Virulenz eigen zu sein, die das Absterben, die dauernde Entwicklung, oder eine teilweise Entfaltung der Samen bedingen. Bernard schließt daraus auf das Vorliegen eines symbiotischen Gleichgewichtes, wenn auch sein Ausdruck durch seine Lehre von der notwendigen Krankheit der Orchideen beeinflußt wird: „À un point de vue théorique, il résulte de ces constatations que l'état dit de symbiose est en quelque sorte un état de maladie grave et prolongée, intermédiaire entre l'état des plantes atteintes d'une maladie rapidement mortelle et celui des plantes qui jouissent d'une immunité complète."

3. Unsere Keimungsversuche.

Ehe wir an die Beschreibung unserer Experimente herantreten, verlohnt es sich wohl, einige Worte über die angewandte Kulturmethode zu sagen. Bernard nahm seine Kulturen in Thermostaten bei einer konstanten Temperatur von 25 Grad vor. Da uns geeignete Thermostaten nicht zur Verfügung standen, brachten wir unsere Kulturen in Glaskästen und diese im Warmhaus unter. In den Wintermonaten war natürlich die Entwicklung der Keimlinge, der weniger hohen Temperatur und der verminderten Lichtmenge wegen, eine relativ langsame.

Die Kästen standen im Treibhaus am hellen Licht unter denselben üblichen Verhältnissen, wie die erwachsenen Pflanzen. Da die Luftfeuchtigkeit in den Kästen eine sehr hohe, war die Gefahr des Austrocknens älterer Kulturen gänzlich beseitigt, dafür die Gefahr der Fremdinfektion wegen des Feuchtwerdens der verwandten Wattepfropfen, mit denen die Kulturgefäße anfänglich verschlossen waren, enorm erhöht, ja die Kultur erwies sich auf die Dauer als unmöglich. Eine Verbesserung bedeutete die Anwendung von locker schließenden Glaskappen von einem Drittel der Länge der verwandten Kulturröhre. Absoluten Schutz gegen Fremdinfektion gewährte endlich ein über dem ersten Wattepfropf der Kulturröhre in einigem Abstand angebrachter zweiter aus käuflicher „Sublimatwatte". Die Glaskappe konnte wegfallen und dies ermöglichte eine bessere Transpiration der Pflänzchen. Die notwendigen Notizen wurden vermittelst des Schreibdiamanten oder der Diamanttinte auf den Röhren selbst angebracht, um der trotz Behandlung mit Sublimat und Paraffinierung schimmelnden Etiketten entbehren zu können. Als Festigungsmittel für das Substrat diente in den meisten Fällen Agar, seltener Watte. Einzelne spezielle Angaben wird der Bericht über die verschiedenen Experimente enthalten.

Samen von

a) Epidendrum (dichromum?)[1])

bildeten das erste Versuchsobjekt. Als Nährsubstrat wurde verwandt: Regenwasser, 2 ‰ Salep und 1,5 % Agar. 25 Tage nach dem gleichzeitigen Aufimpfen von Samen und Pilz fand sich folgendes:

Pilz:	Epidendron-Samen:
1. O. tenthrediniferae	Unverändert
2. O. araniferae R.	„
3. O. chloranthae F.	Embryo schwach verdickt u. ergrünt
4. O. musciferae	„ „ „ „ „
5. O. sambucinae	„ „ „ „ „
6. O. labiatae	„ „ „ „ „
7. O. arachnitis	„ „ „ „ „
8. O. fuscae	Embryo stärker verdickt u. ergrünt.
9. O. apiferae	Embryo stark verdickt u. ergrünt, Integument gespannt
10. O. psychodis	Integument zerrissen, Keimknöllchen mit Wurzelhaaren gebildet.

Die Pilze erwiesen sich also mit Ausnahme der beiden ersten als fähig, die Keimung der Epidendron-Samen einzuleiten. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß in den Fällen 1 und 2 alle Zellen regelmäßig mit Pilzmycel erfüllt waren, bei 3 bis 9 die Verpilzung immer schwächer wurde, und den oberen Teil des Keimlings frei ließ, daß bei 10 endlich nur das untere Viertel, die Umgebung des Suspensorpols in der charakteristischen Weise verpilzt war. Diese Keimpflänzchen entwickelten sich in der Folge allein weiter, die anderen blieben z. T. noch einige Monate grün, starben aber dann ab. Pilzfreie Kulturen ergrünten überhaupt nicht; die Samen blieben unverändert.

Die nunmehr angesetzten definitiven Kulturen der Epidendron-Samen mit O. psychodis erhielten statt des Regen-

[1]) Wir danken sie der Güte des Herrn Prof. Zacharias in Hamburg.

wassers mit dem einfachen Volum Wasser verdünnte Nährlösung nach A. Meyer, die sie zu einem kräftigeren Wuchs veranlaßte.

Die Keimung verlief genau nach dem Typus Cypripedium, nur ergrünten die Embryonen sogleich nach dem Eindringen des Pilzes. Dieser wandert in die oberen Zellen des Suspensors ein. Sofort beginnt der Embryo sich stark zu verdicken: besonders die den infizierten Zellen benachbarten nahmen um das vielfache ihrer Größe zu. Im oberen Teile des entstehenden Kügelchens treten Zellteilungen auf. Unten werden an der Peripherie Papillen angelegt, die bald Haare entsenden. In der dritten Woche entstehen wenige Spaltöffnungen. Am Ende dieser ersten Periode beginnt sich auf der Mitte des Scheitels die erste Blattanlage zu differenzieren.

Die histologischen Verhältnisse sind denen von Cypripedium ebenfalls sehr ähnlich. Die Verdauung der Pilzmassen beginnt sofort in den über dem Suspensor gelegenen Zellen. Die Kerne erleiden dabei die von Magnus bei Neottia beschriebenen Veränderungen. Die Zellen der Epidermis werden ängstlich vom Pilze gemieden. Auffallend ist in den Verdauungszellen die große Menge der „Eiweißhyphen", die von Anilinfarben stark gefärbt, sich leicht durch die anderen fast nicht gefärbten Hyphen verfolgen lassen.

Die zweite Periode vom zweiten bis vierten Monat, von Bernard charakterisiert durch die Begrenzung der Verpilzung, die Anlage der ersten Blätter und des Leitbündels, verläuft bei Epidendron je nach der Konzentration des Nährbodens verschieden.

Auf dem Regenwassersubstrat entstehen die Blättchen auf dem etwas gewölbten Scheitel des kreiselförmigen 1.4—1.5 mm im Durchmesser messenden Pflänzchens, um sich bald mit der Achse noch weiter zu erheben. Der Keimling erhält eine lange Achse und bildet rasch mehrere Blätter aus (Fig. 1).

Auf dem mit mineralischer Nährlösung angesetzten Sub-

strat entwickelt sich die Pflanze bedeutend besser; die embryonale Knolle wird bis zu 2 mm dick. Die Blätter entstehen in geringerer Anzahl, aber dafür bedeutend vergrößert inmitten einer muldenförmigen Vertiefung der Oberfläche des kreiselförmigen Keimlings an dem eingesenkten Vegetationspunkt. Eine Verlängerung der Achse findet auch später nicht statt, die Pflanze bleibt knospenförmig (Fig. 2).

Fig. 1. Epidendrum. Langachsiger, $3^1/_2$ Monate alter Keimling auf Regenwasseragar. Die schraffierte Region ist die infizierte. 10 : 1.

Fig. 2. Epidendrum. Kurzachsiger, 2 Monate alter Keimling auf Nährsalzagar. 10 : 1.

Den Anfang der dritten Periode bezeichnet das Hervorbrechen der ersten Wurzel, bei den gestreckten Pflanzen am dritten Internodium, bei den knospenförmigen an der embryonalen Achse selbst. Dieser Umstand ist bemerkenswert. Der Gehalt des Substrates an Nährsalzen bestimmt also den Keimungstypus der Pflanze. Stehen reichlich Nährsalze zur Verfügung,

Fig. 3. Epidendrum. Kurzachsiger, 6 Monate alter Keimling, mit seiner ersten Wurzel an der embryonalen Knolle. 2 : 1.

Fig. 4. Epidendrum. Langachsiger, 7 Monate alter Keimling mit seiner ersten Wurzel oberhalb der Insertion des dritten Blattes. 2 : 1.

bleibt die Pflanze knospenförmig, die Embryoachse steht aufrecht auf ihrem Scheitel die Blattkrone tragend; ist Mangel an Nährsalzen, wie bei der Kultur auf Regenwasseragar, streckt sich das Pflänzchen in die Länge, die Embryoachse fällt um

und bildet den Abschluß des ersten Internodiums nach hinten kaum ein wenig dicker als dieses; ein schöner Beweis des physiologischen Satzes der Abhängigkeit der Knollenbildung von der Konzentration der Nährlösung.

Fig. 3 zeigt einen 6 Monate alten Keimling auf Nährlösung: die embryonale Knolle trägt außer zahlreichen haartragenden Papillen die erste mit schönem Velamen ausgestattete Wurzel: am Scheitel sind 4 Blätter vorhanden.

Fig. 4, der 7 Monate alte Keimling auf Regenwasser, ist charakterisiert durch seine langgestreckte Achse, die nach hinten mit dem embryonalen Teil abschließt. 6 Blätter sind ausgebildet, am dritten Internodium die Wurzel.

Die erste und alle in der Folge gebildeten Wurzeln laufen über das Substrat und werden von außen durch die Durchlaßzellen infiziert. Die nicht aufliegende Seite bleibt pilzfrei und ergrünt bald.

Im achten Monat wurden die Pflanzen aus den Gläsern genommen und auf Töpfe mit Sphagnum übertragen, wo sie sich normal und ohne bemerkbare Schädigung weiter entwickelten. Einige wenige, in neue Gläser pikiert, gediehen trotz stattfindender Infektion durch Penicillium noch besser als jene. 14 Monate nach der Aussaat besitzen sie mehrere cm lange Blätter und 4 bis 5 Wurzeln (Fig. 16a). Nach 18 bis 20 Monaten entsteht bei allen pikierten Pflanzen der erste Bulbus und beendigt das Wachstum der embryonalen Achse.

Der Pilz gelangt zum Stadium seiner größten Ausdehnung in den Keimlingen von etwa 4—5 Monaten (Fig. 5). Vom Suspensorpole hat er sich in den unteren subepidermalen und innersten Schichten nach oben ausgedehnt, nur in der Achsenrichtung ist sein Wachstum ein beschränktes gewesen. Die Papillen erreichte er von innen und entsandte Hyphen durch die absorbierenden Haare hindurch nach außen in das Substrat. Die Epidermis bleibt mit Ausnahme der Haare gänzlich pilzfrei. Die subepidermale Schicht ist angefüllt mit gleichmäßig 3,3 bis 3,5 μ dicken Hyphen, die sich schwach mit

Haematoxylin und stark mit Eosin färben. Hier und da finden sich in einzelnen Zellen terminal oder intercalar an den Hyphen

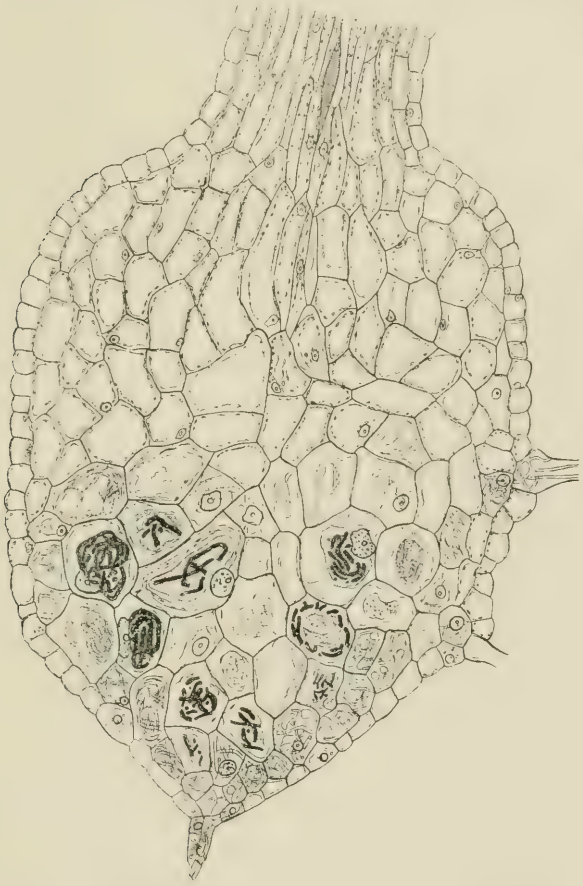


Fig. 5. Epidendrum. Medianer Längsschnitt durch die embryonäre Knolle eines langachsigen Keimlings im Stadium der definitiven Begrenzung des Pilzes. Unten die von Pilzhyphen angefüllten Zellen des Suspensors und der subepidermalen Schicht. Links eine subepidermale Zelle als Verdauungszelle. Rechts auswandernde Hyphen im Trichom. Die Pilzverdauungszellen des inneren, mittleren Teiles sind seitlich begrenzt von der Pilzwirtzellschicht, nach oben von chlorophyllführenden Zellen, die stets von den Hyphen verschont bleiben. In den Verdauungszellen alle Stadien der Verdauung. 90 : 1.[1])

blasige Auftreibungen, die wohl mit den „vésicules" Janses und Gallauds identisch sind, doch bei den Orchideenpilzen

[1]) Diese und die folgenden Zeichnungen mikroskopischer Bilder wurden meist nach Mikrotomschnitten — so Nr. 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 38 — einige auch nach dem frischen Objekt — so Nr. 12, 13, 17, 18, 36, 37 — mit Abbé'schem Zeichenapparat (Zeiß) in der Höhe des Objekttisches entworfen.

bisher nicht mit Sicherheit beobachtet wurden. Sie haben einen Durchmesser von 8—12 μ. Die beschriebene Schicht ist die Pilzwirtzellschicht, die Hyphen ihrer Zellen werden nie resorbiert, selten ist sie durch eine Verdauungszelle unterbrochen.

Das Gewebe, das nach innen auf die Pilzwirtschicht folgt, ist erfüllt von Hyphenknäueln, die sich in allen Stadien der Verdauung befinden; an das chlorophyllhaltige Gewebe im oberen Teile grenzend, finden sich noch Zellen mit soeben eingewanderten Hyphen. Alle Hyphen dieser Schichten färben sich ausschließlich mit Eosin. In den Zellen der Verdauungsschicht sieht man eine große Menge von 4—6 μ dicken, sich stark mit Haematoxylin färbenden „Eiweißhyphen", die wie die übrigen der Vernichtung durch das Pflanzenplasma anheimfallen. Ist in einer Zelle ein Klumpen entstanden, so kann sie von neuem Pilzmycel aufnehmen, das wieder verdaut als neue Schicht auf dem Klumpen abgelagert wird.

Die cytologischen Vorgänge entsprechen genau denen der normalen Orchideenwurzel. Die schon vor der Infektion großen Kerne nehmen in der Nähe des Infektionsherdes bereits an Größe zu. In den Pilzwirtzellen besteht die ziemlich konstante Größe von 8 μ, in den Verdauungszellen wird eine solche von 29—33 μ erreicht. Hand in Hand mit der Vergrößerung geht die Akkumulation des Chromatins, die Vervielfältigung und das Wachsen der Nucleolen. Kernfragmentation tritt häufig ein. Der Kern veranlaßt nach der Verdauung der Pilzmassen die Bekleidung des Klumpens mit einer zelluloseähnlichen Haut und kehrt dann, wenn nicht neue Hyphen in die Zelle gedrungen sind, in seine Ruhelage zurück.

Dieser Modus ist derselbe vom ersten Anfang der Infektion an, die erste Zelle unter der subepidermalen Schicht, die der Pilz erreicht, wird zur Verdauungszelle. Der Verdauungsvorgang scheint somit eine unerläßliche Begleiterscheinung der Keimung zu sein, wenn er sie auch nicht auslöst.

Über der Pilzregion findet sich im Keimling dieses Stadiums

eine Schicht etwas kleinerer chlorophyllführender Zellen, der Pilz dringt aber nie in eine solche ein, ein Satz, dessen Gültigkeit auch Bernard ganz allgemein feststellte. Der Ausdehnung des Mycels ist also in der Pflanze dieses Alters ein Ziel gesetzt. Der grünen Grenzschicht scheint die Aufgabe zuzufallen, den Pilz zu ernähren, denn man findet sie besonders stark mit Stärke angefüllt. Diese Begrenzung der Infektion bleibt eine dauernde.

Bis zur Bildung der Wurzel tritt ein neuer Verpilzungsherd nicht auf. Am wichtigsten für unsere spätere allgemeine Betrachtung wird die Tatsache sein, daß die Pflanze die Mittel hat, den Pilz von gewissen äußerlich von gewöhnlichen noch nicht einmal immer unterscheidbaren Zellen fernzuhalten, den gelegentlich Stärke führenden Zellen der Epidermis, denen der grünen Nährschicht und denen des Gefäßbündelmeristems.

b) *Laelio-Cattleya.*

Im Februar 1908 reiften Samen einer Kreuzung von Laelia grandis var. tenebrosa mit Cattleya labiata var. Mendeli. Die der außen aseptisch gemachten Kapsel entnommenen Samen wurden z. T. in Gläser auf Agar gebracht, um sie auf ihre Reinheit zu prüfen, und dunkel gehalten. Von ihnen stammte das Material zu den Keimungsversuchen. Als der am meisten geeignete erwies sich von 16 Pilzen der aus Serapias lingua isolierte, O. linguae. (Fast noch energischer rief die Keimung hervor der erst später angewandte und dem Serapiaspilze sehr ähnliche von Chysis bractescens.)

Wir wollen den Entwicklungsgang, weil er fast genau wie der von Bernard bei einem Bastard derselben Gattungen beschriebene verlief, relativ kurz behandeln und nur an einigen Stellen Ergänzungen anbringen, oder Dinge betonen, die für die physiologische Deutung der Symbiose von Gewicht erscheinen; sodann die Wirkung der 15 anderen Pilze auf den Samen mit der von O. linguae vergleichen; endlich werden

uns ernährungsphysiologische Experimente mit den Keimpflanzen beschäftigen.

Fig 6. Laelio-Cattleya. Schnitt durch den trockenen Samen. Die Testa ist aufgeschnitten und zeigt den Embryo in seiner normalen Lage. Der Suspensor ist zum Teil weggeschnitten. Die beiden oberen toten Suspensorzellen sind mit stark mit Haematoxylin tingierbaren Massen erfüllt. Über diesen die Einlaßzellen mit fein granuliertem Inhalt und ohne stark tingierbare Einschlüsse. In den Zellen des Embryo aleuronartige gekörnte Eiweißmassen, die ihre — übrigens nicht in allen Samen — sternförmige Anordnung durch den Druck der Öltröpfchen erhielten, mit denen die Zellen vor dem Einbettungsverfahren gefüllt waren, und deren Lagerung sich noch an der wabenartigen Struktur des Zellinhaltes erkennen läßt. Zellkerne ohne jede Differenzierung und ebenfalls mit Eiweißmassen bedeckt. 260 : 1.

Der Samen von Laelio-Cattleya besitzt eine schmalrinnige Testa, die sich dem länglichen Embryo fest andrückt. Die Benetzbarkeit in Wasser tritt nach 3—4 Tagen ein, die schmalen Maschen des Netzwerkes können nur wenig Luft festhalten und diese nicht lange.

Die Art der Keimung des Samens bedingt die Anwesenheit eines auf den Pilz chemotropisch wirkenden Stoffes. Bringt man eine größere Menge Samen mehrere Tage in Wasser, so geht ein gelber Farbstoff in Lösung, der den Samen ihre Farbe verlieh. Die filtrierte Lösung gibt die Fehling'sche Reaktion, an ganzen Samen und abpräparierten Integumenten kann man sie ebenfalls mikrochemisch beobachten. Es wäre

nicht ausgeschlossen, daß diese unbekannte Substanz die gesuchte sei.[1])

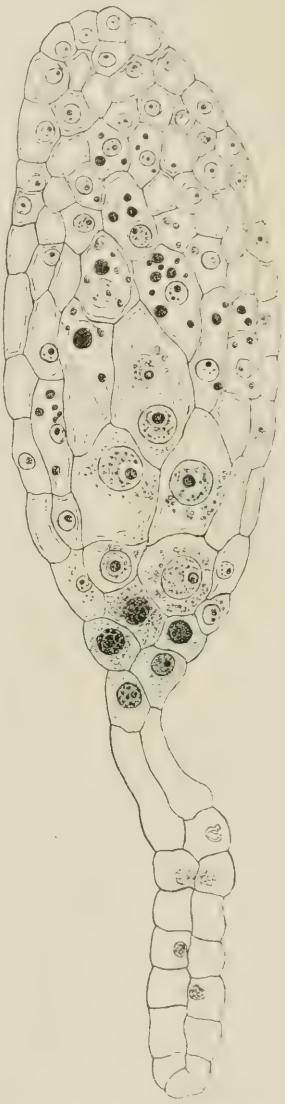


Fig. 7. Laelio-Cattleya. Medianer Längsschnitt durch den gequollenen Samen. Tote Suspensorzellen entleert. Einlaßzellen mit granuliertem, stark mit Haematoxylin tingierten Plasma. In den angeschwollenen Zellen der Mitte und um die zuweilen fraktionierten, mit vacuolisierten Nucleolen versehenen Kerne liegen sehr kleine, zusammengesetzte Stärkekörner. In den peripheren Zellen bemerkt man die Reste des Aleurons in kugeligen Aggregaten. 260 : 1.

Der trockene Same (Fig. 6) besteht wie fast alle Orchideensamen aus einer geringen Anzahl von Zellen, die, in der oberen Hälfte kleiner als in der unteren, in der Achse über dem Suspensor ihre größte Ausdehnung erreichen. Die unteren Zellen des Suspensors sind abgestorben und enthalten nur noch Reste ihres Inhaltes. Die lebenden Zellen sind dicht gefüllt mit körnigen Proteinmassen und führen überdies eine große Quantität fettes Öl.

Der gequollene Same (Fig. 7) zeigt in seinem anatomischen Bau wenig Unterschiede, die Zellen haben sich lediglich vergrößert. Die Inhaltsbestandteile sind gelöst worden, von den beiden Hauptstoffen sind noch Reste vorhanden. Die Abbildung läßt im oberen Teile des Embryo verschieden große Tröpfchen erkennen, die starke Affinität zu Haematoxylin besitzen. Sie dürfen mit einiger Sicherheit als die Reste des Samenproteins angesprochen werden. Das noch vorhandene Öl konnte nicht zur Darstellung gelangen weil es bei dem Einbettungsverfahren gelöst wird und Hand-

[1]) Genaueres über die Frage des Chemotropismus folgt im biologischen Teil.

schnitte durch die geringe Größe des Samens vereitelt werden. Es läßt sich beim Zerquetschen der Samen leicht nachweisen.

Eine Anhäufung von Eiweißstoffen ist in den über dem Suspensor gelegenen Zellen augenscheinlich; doch nicht in der oben erwähnten Form kleiner Tröpfchen, sondern fein im Plasma verteilt und nur bewiesen durch die starke Tinktion des Zellplasmas durch Hämatoxylin. Die Kerne sind mit ihren Nucleolen gänzlich von dunklen Massen eingehüllt und besitzen unregelmäßig kantige Umrisse. Wir wollen diese Zellen in der Folge mit „Einlaßzellen" bezeichnen, da die Infektion immer durch sie erfolgt. Die Wände der epidermalen Zellen des Embryos sind mit einer Cuticula versehen, die die Aufnahme von Flüssigkeit durch dieselben unmöglich macht. Der Suspensor, dessen Zellen die Zellulosereaktion zeigen, ist somit als allein absorbierendes Organ des Keimlings und des noch wurzelhaarlosen Pflänzchens aufzufassen, was um so mehr einleuchtet, als er — wie Treubs in seinen schönen Studien über die Embryogenese der Orchideen (79) für alle mit Suspensor versehenen Embryonen verschiedener Gattungen bewies — schon in ganz früher Zeit seiner Entstehung sich seines Suspensors zur Absorption bedient, wie die Kutinisierung seiner epidermalen Zellen schon in diesen Stadien beweist. Die erste Funktion des quellenden Samens, die das Erwachen der Lebenstätigkeit dokumentiert, besteht in der Umwandlung eines Teiles des Öles in Stärke. Im abgebildeten Stadium, dem Stadium der Empfängnis, sit venia verbo, findet man in den Durchlaßzellen und noch mehr in den darüber gelegenen großkernigen Zellen Stärke in Form äußerst kleiner, durch optische Verhältnisse in der Mitte schwarz erscheinender, vielfach zusammengesetzter Stärkekörnchen.

Bernard zeigte bei derselben Gattung bereits, daß die Infektion sich Monate hinausschieben läßt. Doch nimmt der Keimling dann eine etwas abweichende Entwicklung. Mit der Ausbildung größerer Stärkemengen im Samen geht einher das Auftreten winzig kleiner Chloroplasten in den epidermalen und

subepidermalen Zellen der oberen Hälfte des Embryo, der dann bald gelblich-grün erscheint. In den sich allmählich vergrößernden Chromatophoren treten bald kleine Stärkekörnchen auf, die den Beginn der Assimilation demonstrieren. Die Reservestoffe des Samens sind bald vollständig gelöst. die aus dem Öle entstandene Stärke ist den großen Zellen der Suspensorseite eingelagert, die als künftige Verdauungszellen

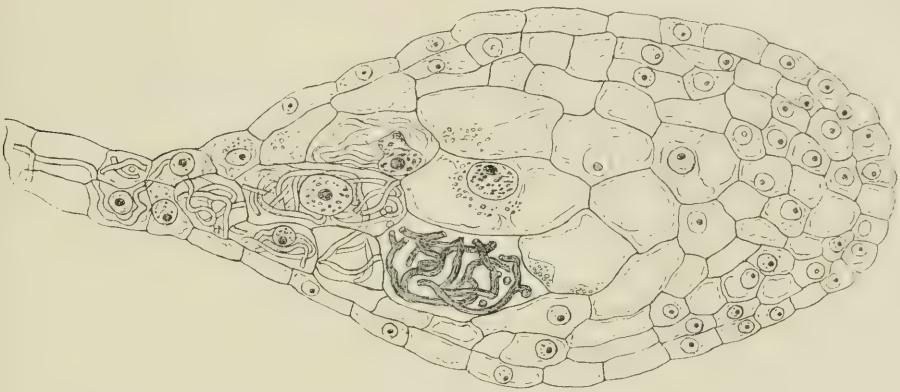


Fig. 8. Laelio-Cattleya. Längsschnitt durch den frisch infizierten Keimling. Die Infektion hat durch die toten Suspensorzellen stattgefunden. Die Einlaßzellen und ihre Kerne sind entfärbt. Beginn der Verdauung; die ersten Eiweißhyphen; noch keine Zellteilungen im oberen Teil des Embryo. 260 : 1.

die Ankunft des Pilzes erwarten. Der kugelige Keimling sprengt schließlich die Maschen des Integuments, bleibt aber noch lange von den Resten desselben eingehüllt. Er erreicht in 3—4 Monaten im besten Falle einen Durchmesser von 0,35 mm. Sein langsames und kümmerliches Wachstum findet seinen Abschluß in der Bildung weniger Papillen seitlich etwas oberhalb der Durchlaßzellen, die einige meist kurze absorbierende Haare entsenden, und vereinzelter Spaltöffnungen am etwas abgeflachten Scheitel.

In den folgenden Monaten kann der Durchmesser des Pflänzchens sich in einzelnen Fällen bis auf 0,5 mm vergrößern. und eine Blattanlage zur Ausbildung gelangen, doch treten nun Änderungen im Zustand ein, die erkennen lassen, daß der günstige Augenblick zur Infektion versäumt wurde. Die

in den Zellen über dem Suspensor befindliche Stärke wird wieder in Öl verwandelt, der Embryo enthält nur noch in den Chloroplasten Stärke. Es ist ein Ruhezustand eingetreten, der ein ganzes Jahr andauern kann, ohne daß die Pflänzchen absterben oder sich wesentlich verändern.

Die normale Infektion des Samens kann erfolgen, wenn die Quellungserscheinungen beendigt, und ein wenig Stärke gebildet ist. Da diese Verwandlung des Öles in Stärke der Infektion voranzugehen pflegt, darf sie nicht auf Rechnung eines etwa vom Pilz produzierten Enzyms gesetzt werden. (Bei einem Samen des Keimungstypus Cypripedium, der erst nach der Infektion ergrünen kann und bei dem die Quellungsveränderungen geringe sein dürften, wäre die Frage zu untersuchen.) Die Eintrittsstelle des Pilzes findet sich immer an den unteren toten Zellen des Suspensors (Fig. 8). Von ihnen aus durch die „Einlaßzellen" wachsend, gelangt der Pilz in die großen inneren Basalzellen des Embryo, wo er sich alsbald breit macht. In den Einlaßzellen sind auffallende Veränderungen eingetreten. Die Stärke verschwindet, ebenso alle jene sich dunkel färbenden Bestandteile des Plasma. Die Zellen zeigen mit einem Male ganz normales Aussehen, schwach gefärbtes Plasma und Kerne richtiger Pilzwirtzellen. Die Pilze haben augenscheinlich die ihnen hier gebotenen Stoffe aufgenommen. Sie werden damit in den der Pflanze wünschenswerten Zustand der Ernährung gesetzt. In den benachbarten großen Zellen bietet sich ihnen Stärke in Menge dar. Ihre Diastase scheint ihnen hier zum Nachteil zu werden. Große Quantitäten Zucker werden frei und liefern der Pflanze eine ganz bedeutende physikalische Energiequelle, die sich in starker Wasseraufnahme äußert und dadurch die Zellen eines rapiden Wachstums befähigt. Die Überernährung des Pilzes mit Kohlehydraten bedingt als Anomalie die Bildung weitläufiger Knäuel hypertrophierter Hyphen, die den verdauenden Enzymen des gewaltig angewachsenen Zellkerns leicht unterliegen. In wenigen Verdauungszellen erhält sich das

Leben. Eiweißmassen werden aus dem allgemeinen Verderben gerettet, eine dicke Membran schützt die Rückzugsorte. Die sporenhomologen[1]) Eiweißhyphen sind entstanden. Doch auch sie gehen zugrunde; allmählich verlieren sich ihre Konturen in der formlosen Masse. Aussaugend umspannt der Kern sein Opfer und umgibt den toten Klumpen mit einer Zellulosehülle.

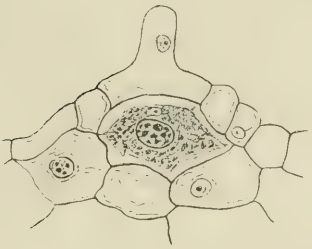


Fig. 9. Laelio-Cattleya. Anlage einer Papille mit der ersten stark tingierbaren Basalzelle. 280 : 1.

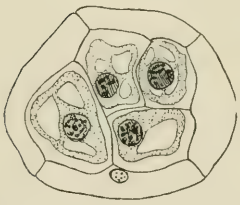


Fig. 10. Querschnitt durch ein ähnliches Stadium. 280 : 1.

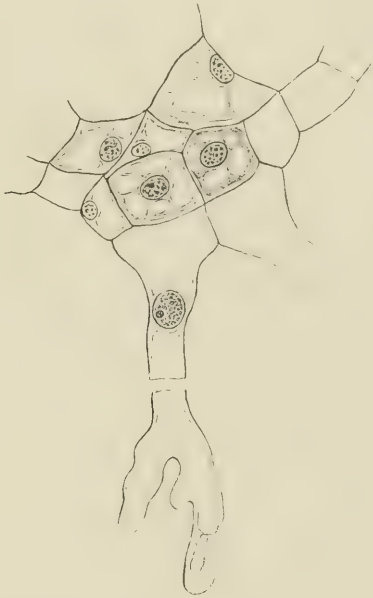


Fig. 11. Längsschnitt durch eine ältere Papille nach der Vierteilung der Basalzelle. Trichom mit plasmareichen Enden. 280 : 1.

Das Verderben ist damit noch nicht beendet. Neue Hyphen entsenden die Wirtzellen der Peripherie des Keimlings; neue aufgelagerte Schichten toter Materie umgeben den zentralen Klumpen.

Der Keimling hat sich während dieser aufregenden Begebenheiten weiter differenziert. Zunächst werden die haartragenden Papillen gebildet. Eine Zelle unter der Epidermis wächst zu einer bedeutenderen Größe heran, wie ihre Schwesterzellen

[1]) Die Begründung mancher hier ausgesprochenen Sätze erfolgt im histologischen Teil der Arbeit.

(Fig. 9). Ihr Kern fällt auf durch seine Größe, ihr Plasma durch starke Tinktionsfähigkeit; sie verhält sich analog, wie die Einlaßzellen über dem Suspensor des Embryo. Eine der ausgestülpten Epidermiszellen läßt das erste Haar entstehen. Die Weiterentwicklung erfolgt mit der Teilung der basalen Zelle durch Antiklinen in vier, diese teilen sich wiederum und alle Tochterzellen behalten (Fig. 10 und 11) die Eigenschaften der ursprünglichen Basalzelle bei, bis die Hyphen sie durchdringen. Die Epidermiszellen über ihnen wachsen zu absor-

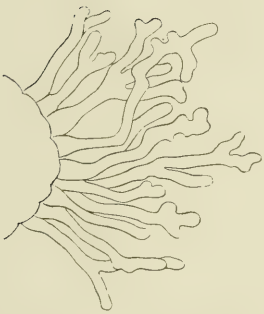


Fig. 12. Laelio-Cattleya. Verzweigte Trichome einer älteren Papille.

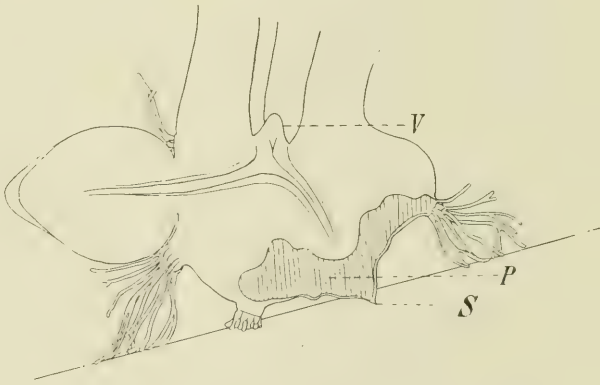


Fig. 13. Laelio-Cattleya. 4 Monate alter Keimling im Durchschnitt. *S* Suspensorpol. *P* Verpilzte Zone. *V* Vegetationspunkt. Eine Papille ist von innen vom Pilz erreicht. Die verzweigten Trichome verankern die Pflanze auf dem Substrat und stellen ihr Wachstum ein, wenn sie dieses erreichen. Links die Anlage der ersten vom Pilz im jugendlichen Stadium nicht berührten Wurzel. 18 : 1.

bierenden Haaren aus, deren Kerne ebenfalls eine bedeutende Größe aufweisen. In der Folge an älteren 3—4 Monate alten Keimlingen findet man weitläufige Gewebekomplexe mit zahlreichen Haaren. Die Trichome haben die Eigentümlichkeit, sich zu verzweigen, um (Fig. 11, 12) dem kleinen jetzt kreiselförmig gewordenen Pflänzchen Halt zu bieten. Wie sie sich dem Substrat anlegen, zeigt Fig. 13 bei einem 4 Monate alten Keimling, der soeben seine erste Wurzel entsendet.

Im vierten Monat erreicht die Ausdehnung der Verpilzung ihren Höhepunkt. Die verpilzte Region reicht bis unter einen

Teil der haartragenden Papillen und einige Hyphen wachsen durch die Haare hindurch nach außen. Mit der nun eintretenden Anlage der ersten Wurzel wird wenigstens auf dem nährsalzreichen Substrat des verwandten Kulturbodens der Pilz in der Pflanze gänzlich resorbiert, selbst in den sonst als Wirtzellen funktionierenden Zellen der subepidermalen Schicht während diese bei dem früher beschriebenen Keimlinge von Epidendrum immer erhalten blieben. Erst in den Durchlaßzellen der jungen Wurzel werden die Stellen geschaffen, die dem Pilze eine neue Infektion gestatten und ihm den Zugang zu den inneren Geweben der Wurzel erlauben. Die Durchlaßzellen der Wurzel aber, die wir von allen mit Velamen versehenen Orchideenwurzeln kennen, sind wieder genau so organisiert wie die Basalzellen der Papillen und die Einlaßzellen des Embryo; wir dürfen alle drei als analoge Gebilde betrachten, die außer direkter Absorption auch die Durchleitung des Pilzes zu besorgen haben. Mit der Verpilzung der Wurzel ist die junge Pflanze wenigstens in Beziehung auf ihre Mycorrhiza erwachsen.

c) Saprophytische Keimung.

Nachdem wir den Keimungsvorgang unter normalen Bedingungen kennen gelernt haben, sollen uns einige bei nicht normalen Voraussetzungen eintretende Abweichungen beschäftigen.

Die Art der Entwicklung der Samen ohne Wurzelpilze haben wir oben geschildert. Sie endigt mit der Bildung einiger Papillen und weniger Haare. Blätter und Wurzeln entstehen nicht, und der Durchmesser des Keimlings beträgt im besten Falle nach vielen Monaten 0,5 mm.

Manche Gattungen besitzen, wie schon erwähnt, eine saprophytische Keimung, das Ergrünen der Pflanze tritt erst einige Zeit nach der Infektion ein, weil der Keimling gezwungen ist, seine Jugend unterirdisch zu verleben.

Die Frage lag somit nahe, ob auch bei den vor der In-

fektion ergrünenden Formen, so bei unserer Laelio-Cattleya eine saprophytische Entwicklungsweise an Stelle der autotrophen treten könne.

Die Samen wurden daher zunächst ohne Pilz auf einen Agar gebracht, der außer der mineralischen Nährlösung 0,33 Proz. Rohrzucker enthielt, und dunkel gehalten. Die Entwicklung trat, wenn auch langsam, ein; in 3 Monaten war die Maximalgröße der farblos gebliebenen Embryonen erreicht, das Wachstum stand still bei einem Durchmesser von 0,4—0,5 mm. Außer den eben angelegten Papillen fand sich keine andere Differenzierung. Zehn Monate nach der Aussaat waren die Embryonen noch lebensfähig und keimten im Licht mit dem Pilz versehen sofort. Vergleichskulturen im Dunkeln ohne Rohrzucker blieben bei 0,25 mm Durchmesser stehen und waren nach 10 Monaten abgestorben. Es resultiert, daß es den Pflanzen gegeben, fertige Kohlenhydrate in beschränktem Maße dem Substrate zu entnehmen, daß aber eine Entwicklung über das Anfangsstadium hinaus ihnen unmöglich ist.

Die Ergebnisse von Versuchen mit infizierten Keimpflanzen sind viel interessanter: 4 Monate alte in oben geschilderter Weise auf Rohrzucker gehaltene Keimlinge wurden mit O. linguae infiziert und in dem Thermostaten bei 23° und sehr hoher Luftfeuchtigkeit dunkel gehalten. Bald zeigte sich eine freilich langsame Entwicklung. Am Ende weiterer 3 Monate hatten einige von den Pflänzchen einen Durchmesser von 1—1,3 mm, sie besaßen überaus zahlreiche Haarpapillen, die sich selbst in der Nähe des Vegetationspunktes fanden. Die Haare dieser Papillen gaben ihnen ein igelartiges Aussehen. Im folgenden Monat erschien am Vegetationspunkt ein langes, scheidenförmiges Blatt. Die genaue Untersuchung ergab, daß dies nicht das erste, sondern das zweite war; das erste ließ sich am Scheitel der Keimknolle noch auffinden (Fig. 14). Der Vegetationspunkt hatte sich aus seiner sonst eingesenkten Lage erhoben und saß überhalb der Insertion

des zweiten Blattes auf einem neuen ebenfalls mit Papillen ausgestatteten Achsenteil. Wir haben es also mit einer der bei Epidendrum besprochenen homologen Erscheinung zu tun. dort war allerdings Nährsalzmangel die Ursache, hier Lichtabschluß.

In diesem Stadium gingen leider die Pflänzchen infolge Austrocknen der Kultur zu Grunde.

Obige Experimente beweisen bereits, daß ein prinzipieller Unterschied im physiologischen Verhalten des Pilzes bei der

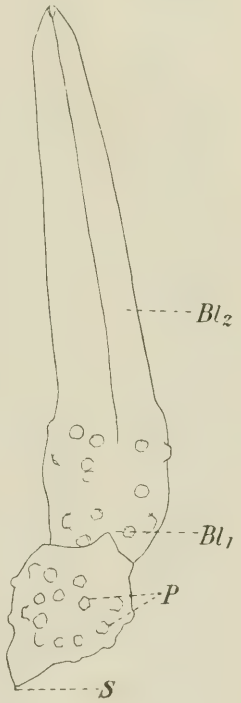


Fig. 14. Laelio-Cattleya. Im Dunkeln erwachsener etiolierter Keimling. *s* Suspensorpol. Bl_1 erstes Blatt. Bl_2 zweites, scheidenförmiges Blatt. *P* Papillen (die Trichome sind weggelassen). 18 : 1.

Keimung der terrestrischen und epiphytischen Orchideen nicht existiert, und daß wir die saprophytische Keimweise der Orchideen für die primäre, das frühzeitige eventuell schon vor der Infektion stattfindende Auftreten von Chlorophyll für eine spezielle Anpassung an das Lichtleben der Epiphyten halten dürfen.

Die Möglichkeit saprophytischer Keimung mußte sich weiter durch Ausschluß der Kohlensäure demonstrieren lassen.

Wir brachten daher gewöhnliche zweiblättrige Keimlinge auf dem üblichen kohlenhydratarmen Substrat in Buchnersche Anaerobengläser, die unten mit Kalilauge gefüllt und mit Gummipfropfen verschlossen waren, und stellten sie im Treibhaus im Licht auf; ebenso Vergleichskulturen, deren Übergläser statt Kalilauge Wasser enthielten. Manchmal wurden gegen Abend die Pfropfen abgenommen, um frischen Sauerstoff einzulassen.

Die assimilierenden Pflänzchen entwickelten sich normal

weiter, nur ein wenig langsamer, als im unverschlossenen Raum. Die der Assimilationsmöglichkeit beraubten blieben zurück und starben nach 1—2 Monaten ab. Unter den gewöhnlichen Kulturbedingungen scheint somit die saprophytische Ernährungsweise der Keimpflanze unmöglich zu sein.

Vorzüglich gelang der Versuch dagegen auf Agar, der außer den Nährsalzen 0,33 Proz. Rohrzucker enthielt.

Samen brachten wir in Röhren auf dieses Substrat und die Röhren über Kalilauge. Die Entwicklung trat im Juli ein, die Embryonen ergrünten und erreichten eine Größe von 0,45 mm, verhielten sich also, wie bei Anwesenheit von Kohlensäure. Nach 3 Monaten blieb die Entwicklung stationär. Nun wurde der Pilz Ende Juni aufgeimpft. Die Embryonen verdickten sich rasch, wenn auch etwas langsamer, wie bei Anwesenheit von Kohlensäure, und wurden, weil sie zu dicht saßen, im August in neue Röhren pikiert und diese unter eine große Glocke mit U-rohr und Kalilauge (nach Detmer 09) gestellt, wo die grünen Keimlinge schön weiter gediehen. 3 Monate nach der Infektion, im September, besaßen sie eine Länge von 5 mm und intensiv grüne, allerdings ganz schmale und kleine Blättchen. 6 Monate nach der Infektion haben sie die Größe normaler Pflanzen im Stadium vor der Wurzelbildung erreicht und beginnen, ohne hierzu überzugehen, ihre Achse zu verlängern. 6 Monate später sind die meisten Achsen auf 2 bis 4 Internodien verlängert, die immer noch schön grün gefärbten und gesunden Pflanzen besitzen eine Größe von 0,7—0,9 cm und je 4—6 schmale Blätter, aber noch keine Wurzel (Fig. 15a). In Gläsern, die in die kohlensäurehaltige Atmosphäre gebracht wurden, entstanden die Wurzeln nach wenigen Wochen (Fig. 15b).

Das Experiment zeigt, daß die Pflanze fähig ist, mit geeigneten im Boden vorhandenen Kohlenhydraten auszukommen; doch geht natürlich nicht daraus hervor, daß der Pilz dabei den Vermittler spielt. Die Wurzelbildung scheint, wie in den unter Lichtabschluß gehaltenen Kulturen, auf Kosten der Ver-

längerung der Achse unterdrückt zu werden. Mehr instruktiv wäre das Experiment dann ausgefallen, wenn wir statt Zucker Stärke zum Substrat gegeben hätten: dann hätte die Diastase

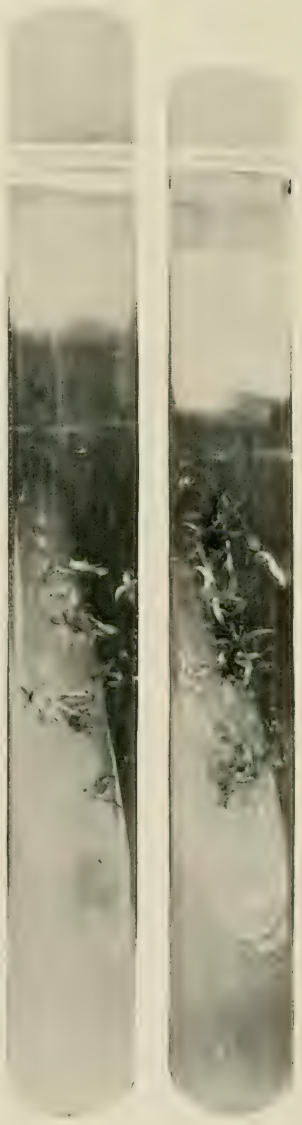


Fig. 15a b. Laelio-Cattleya. Vor 12 Monaten infizierte, in kohlendioxydfreier Atmosphäre erwachsene Pflänzchen. Die Ausbildung der Wurzeln unterbleibt. $^2/_3$: 1.
Vor 12 Monaten infizierte Pflänzchen, seit einem Monat in kohlendioxydhaltiger Atmosphäre assimilierend. Die Wurzeln sind entstanden. $^2/_3$: 1.

des Pilzes erst Zucker schaffen müssen; dem Pilz wäre also eine spezifische Funktion bei der Ernährung der Pflanze zugefallen. Daß diese die aus der Stärke freigemachte Maltose ebenso aufgenommen hätte, wie die Sacharose, ist sehr wahrscheinlich.

Da auch nicht mycotrophe grüne Pflanzen sich in Abwesenheit von atmosphärischer Kohlensäure mit organischen Verbindungen ernähren lassen, wenn nur das Licht freien Zutritt hat[1]), ist obiges Versuchsresultat an sich ohne Belang für die Frage der Möglichkeit eines fakultativen Holosaprophytismus bei grünen Orchideenkeimlingen, doch scheint die ganze normale Entwicklung der Pflanzen auf eine gegenüber Autotrophen erleichterte Aufnahme des Kohlenhydrates schließen zu lassen.

[1]) cf. z. B. Lefèvre, I. Sur le développement des plantes à chlorophylle à l'abri du gaz carbonique de l'atmosphère, dans un sol amidé, à dose non toxique. (Rev. gén. d. Bot. T. XVIII.)

Tabelle II.

Nr.	Zusammensetzung des Substrats	Intensität des Wuchses	Habitus der Keimlinge
1	0,2 % Salep + Leitungswasser	+ +	0,5—1 mm Durchmesser; gelblich
2	0,1 % Stärke + MN*) + 0,053 % Ammoniumchlorid	+ + + + + +	1,5—2—2,5 mm „ dunkelgrün
3	„ „ + ½ „ + 0,026 % „	+ + + +	1—1,5—2 mm „ dunkelgrün
4	„ „ + ⅕ „ + 0,01 % „	+ + +	0,7—1,5—2 mm „ grün, teils gelblich
5	„ „ + MN (keinen Stickstoff)	+	0,3 mm „ gelblich
6	„ „ + „ + 0,101 % Kaliumnitrat	+ +	0,5—0,7—1 mm „ gelblich
7	„ „ + „ + 0,03 % Harnstoff	+	0,5—0,7 mm „ tot
7a	„ „ + „ + „ „ „ ohne Pilz	o	0,2—0,3 mm „ gelblich
8	0,2 % Glukose + „ + 0,101 % Kaliumnitrat	+ +	0,3—0,5 mm „ gelblich
8a	„ „ + „ + „ „ „ ohne Pilz	o	0,2—0,3 mm „ meist tot
9	„ „ + + + 0,049 % Asparagin	+ +	0,4—0,7 mm „ gelblich
9a	„ „ + + + „ „ „ ohne Pilz	o	0,2—0,3 mm „ gelblich

Bei einem zweiten zur Kontrolle angestellten Experiment verwandte ich bei 2, 3 u. 4 statt Ammoniumchlorid Ammoniumnitrat:

2a	0,1 % Stärke + MN + 0,04 % Ammoniumnitrat	+ + + +	1,5—2 mm Durchmesser; dunkelgrün
3a	„ „ „ + ½ „ + 0,02 % „	+ + + +	1,5—2 mm „ „
4a	„ „ „ + ⅕ „ + 0,008 % „	+ + +	1—2 mm „ grün, teils gelblich

*) MN bedeutet stickstofffreie mineralische Nährlösung nach Arthur Meyer; ½ MN auf das doppelte; ⅕ auf das 5 fache Volum verdünnte MN.

Daß den Pflanzen die Fähigkeit holosaprophytischer Ernährung nicht abgeht, beweist allein, aber zur Genüge, das vorher erwähnte Experiment unter Ausschluß des Lichts.

d) Ernährungsphysiologische Experimente.

Die Größe des Durchmessers der Keimknolle gibt bei Keimlingen bis zum dritten Monat ein annähernd richtiges Maß für den Grad der Entwicklung. Die Keimlinge erhalten mit etwa 0.3 mm Kugelform, mit 0,7 mm die charakteristische Kreiselform und eine kleine Blattanlage, mit 1 mm wird das erste Blatt ausgebildet, mit 2 mm endlich ist auch ein zweites entstanden. Diese Art der Messung ließ sich bei Kulturen mit verschiedenen Stickstoffquellen bei Stärke- oder Glucosezugabe zur Kritik des Wuchses verwenden. Die Nährlösungen wurden in die von Bernard für Wattekulturen beschriebenen, unten an einer Stelle verengten Gläser gebracht, und eine Watteflocke über die Verengerung befestigt, deren eines Ende in die Flüssigkeit eintauchte.

Pilz und Samen wurden aufgeimpft.

Das Resultat dieser $8\,^3/_4$ Monate, vom 28. April bis zum 30. August, ausgedehnten Kulturen ist in vorstehender Tabelle verzeichnet.

Bernard kultivierte seine Sämlinge im Anfang auf dem mit Nr. 1 bezeichneten Substrat, kam aber später (06) dazu, mit Erfolg mehr Salep (8—10 ‰) anzuwenden. Die schlechte Erfahrung bei der Kultur mit 2 ‰ Salep schrieb er der verwandten Watte zu. Tatsächlich ist die Kultur auf Watte eine ungünstige, weil die Pflänzchen zu sehr benetzt werden, doch schloß bei uns die Unmöglichkeit, Stickstoff in irgend welcher Form in die Kultur zu bringen, die Anwendung von Agar aus. Die Überlegenheit der Nährsalzlösung, des chemisch bestimmten Substrates, gegenüber dem organisierten wird gerade durch das relativ gute Gedeihen der Keimlinge auf der wenig geeigneten Watte, bei Nr. 2, 3 und 4 demonstriert.

Aus umstehender Tabelle geht des weiteren hervor, daß

die besten Stickstoffquellen für die Pflanze fast dieselben sind, wie für die Gruppe der Kalkorchideenpilze, der O. linguae nahesteht. Das Chlorid und das Nitrat des Ammoniums nehmen für die Pflanze die erste Stelle ein, für die Pilze sind sie die besten anorganischen Stickstoffquellen, wie unsere frühere Tabelle zeigt. Beiden Organismen entsprechend ist die Qualität des Kaliumnitrates eine geringe. Gegen Asparagin verhalten sich Pilz und Pflanze verschieden. Der Grund könnte in der der Pflanze erschwerten Aufnahme der höher molekularen Verbindung, oder in einer vom Pilz verursachten schnellen Veränderung des Asparagins gesucht werden.

Das geradezu armselige Gedeihen beider Organismen auf dem stickstoffarmen Substrat Nr. 5 — als gänzlich stickstofffrei darf es nicht angesehen werden, weil der Pilz sich nur mit einem Stückchen Substrat übertragen läßt, und wenig frei werdende Säure Ammoniak festhalten könnte, — vermag der so viel verwandten Aufnahme der Assimilation atmosphärischen Stickstoffs wohl mit Sicherheit den Boden zu entziehen.

Die Kulturen ohne Pilz sollten, die Möglichkeit der selbständigen Aufnahme der Kohlenhydrate vorausgesetzt, die des Stickstoffs beweisen, sie verliefen negativ; leider wurden sie mit Ammonsalzen nicht angestellt.

e) Die Wirkung von Infektionen des Substrates durch rein saprophytische Pilze und Bakterien auf ältere Keimlinge und ihr Erfolg.

Vier Monate alte Keimlinge von Laelio-Cattleya pikierten wir, da sie auf dem Substrat, auf dem sie ausgesäet waren, eine gelbliche Färbung zeigten, die Vermutung, daß die Nährsalze erschöpft wären, lag nahe, — auf ein neues Substrat mit unverdünnter mineralischer Nährlösung. Fremdinfizierte Gläser wurden nicht verwandt, trotzdem zeigten sich einige der so erhaltenen Kulturen teils von Pilzen, teils von Bakterien infiziert, die die Stoffwechselprodukte des Mycorrhizapilzes in der alten Kultur nicht hatten aufkommen lassen. Diese son-

derten wir aus und stellten sie bei Seite. Die steril bleibenden Keimlinge gediehen aber auf dem neuen Substrat keineswegs besser, vielmehr kränkelten sie zusehends mehr.

a *b* *c* *d*

Fig. 16 *a*. Epidendrum. 14 Monate alte Keimpflanzen inmitten eines Penicilliumrasens ohne Schädigung gedeihend. $^2/_3$: 1.

Fig. 16 *b c d*. Laelio-Cattleya. 7 Monate alte Pflänzchen, vor 3 Monaten auf neutrales Substrat pikiert. $^2/_3$: 1. *b* Fremdinfiziert durch saprophytischen Pilz. *c* in Reinkultur. $^2/_3$: 1. *d* Fremdinfiziert durch Bakterien. $^2/_3$: 1.

Desto größer war die Überraschung, die die eines Tages wieder vorgenommenen fremdinfizierten Gläser boten: Die Pflänzchen hatten sich, soweit sie nicht von den Schimmelpilzen ganz überwuchert und vom Licht abgeschnitten waren, wieder vollständig erholt und besaßen eine schöner grüne Färbung, denn je. Drei Monate nach dem Pikieren waren die Unterschiede so stark, wie sie die Photographie Fig. 16 zeigt.

Fig. 16 b) Eine mit einem braunen nicht näher bestimmten saprophytischen Pilze infizierte Kultur enthält tiefgrüne große Pflanzen mit je zwei Wurzeln.

Fig. 16 c) Ein Kulturgefäß mit den Pflänzchen und dem Wurzelpilz in Reinkultur: die obersten Gruppen sind gebräunt und am Absterben; die mittlere ist gelb gefärbt, die unteren zeigen noch Spuren von Chlorophyll. Alle sind bei der Entwicklung der ersten Wurzel stehen geblieben. Die weiße Färbung des Substrates rührt von dem unter der Oberfläche wachsenden Mycel und den Sporenhäufchen des Serapiaspilzes.

Fig. 16 d) Eine von weißen Bakterien fremdinfizierte Kultur: die Pflanzen haben dieselbe Stärke, wie bei c.

Diese auffallenden Unterschiede zwischen fremdinfizierten und reinen Kulturen fanden ihre Erklärung, als die Reaktion der Substrate geprüft wurde. Die der ersteren gaben eine starke Reaktion auf Säure, die der letzteren waren neutral geblieben. Ein schädigender Einfluß der aus dem Stoffwechsel der Saprophyten stammenden Säuren auf den Wurzelpilz schien ein besseres Gedeihen der Pflanzen zur Folge zu haben. Wie sich diese Erscheinung zur Theorie der Symbiose verhält, darüber wollen wir später reden. Zunächst gilt es, die Sache einwandsfrei zu beweisen, da man bei obigem Experiment an eine spezifische Einwirkung des fremden Organismus denken könnte.

Es wurden Kulturen angesetzt, deren Agarsubstrat außer dem Üblichen eine Zugabe von 2proz. Normalmilchsäure enthielt, und die wie bei allen untersuchten Pilzen, mit Ausnahme einiger über dem Substrat wachsender Formen, auch bei dem in Frage kommenden O. linguae das Wachstum gänzlich ver-

hinderte. Pflänzchen, die soeben die erste Wurzel ausbildeten, dienten als Objekte und wurden aufpikiert.[1]) Nach wenigen Wochen zeigte sich bereits ein deutlicher Unterschied, nach 3 Monaten hatten die Pflänzchen auf milchsaurem Substrat die dreifache Stärke der anderen, trotzdem einige ihrer Wurzeln sich abgestorben zeigten. Der Pilz war in diesen Kulturen merkwürdigerweise entgegen der Erfahrung in freier Kultur gut gewachsen, wies aber eine reichlichere Sporenbildung auf.

Die Feststellung, daß in der Symbiose durch eine Schädigung des einen Symbionten gelegentlich eine Steigerung der Lebenskraft des anderen erreicht werden kann, ist schon öfters gemacht worden. Das nach Elenkin in unserer Einleitung zitierte Beispiel der Flechtengonidien, die sich nach dem Tode des Pilzes selbständig weiter entwickeln, könnte in unserem Falle bei der fördernden Wirkung der von den Saprophyten erzeugten Säure auf das Wachstum der Pflanzen zum Vergleich herangezogen werden. Wenn es gelänge, durch geeignete Dosierung von Säure den Pilz gänzlich abzutöten, wäre es sehr wohl möglich, daß die Pflänzchen weitergedeihen. Ein Beweis gegen das Bestehen einer mutualistischen Symbiose wäre im Falle des Gelingens jedoch nicht durch dieses Experiment gegeben, weil die Kulturbedingungen der Pflanzen denen in freier Natur verwirklichten nicht entsprächen, sich vielmehr auf dem nährsalzreichen Substrat außerordentlich viel günstiger erwiesen.

Wie unser Milchsäureexperiment beweist, berechtigt nun aber eine Schädigung des Pilzes durch gegebene Umstände noch nicht, auf die Schädigung des Pilzsymbionten zu schließen. Es zeigt sich, daß der Pilz im Zusammenleben mit der Pflanze entgegen den sonstigen Erfahrungen überhaupt nicht geschädigt wird, vielmehr auf dem ihm allein ungeeigneten Substrat vorzüglich gedeiht und fruktifiziert. Versuche, die bezweckten, durch eine Steigerung des Milchsäuregehaltes im Substrat das Wachstum des Pilzes zu verhindern und auf diesem Wege

[1]) Vor den Pflänzchen auf dasselbe Substrat übertragene Mycelstückchen des Pilzes wuchsen nicht aus.

pilzfreie Pflanzen zu gewinnen, schlugen fehl. Selbst bei 4 Proz. Normalmilchsäure wuchs der Pilz noch von den aufpikierten Pflanzen nach außen, doch kränkelten die letzteren so stark, daß an eine weitere Steigerung des Milchsäuregehaltes nicht gedacht werden konnte. Der schädigende Einfluß der im Falle der Fremdinfektion der Kulturen durch Bakterien und Pilze entstehenden Säure auf die Pilze ist somit nicht nachzuweisen, vielmehr deuten die Tatsachen auf eine selbst unter den anormal günstigen Kulturbedingungen verwirklichte mutualistische Symbiose. Die Ursachen für das Bessergedeihen der Sämlinge in den säurereichen Kulturen müssen an anderer Stelle gesucht werden und sind nicht weniger im Stoffwechsel der Pflanze begründet, als in dem der Pilze.

f) Die Ergebnisse von Infektionen der Laelio-Cattleyasamen mit 17 verschiedenen Wurzelpilzen.

Die Kulturen werden auf folgendem Substrat angesetzt: 1 Teil mineralische Nährlösung, 1 Teil Wasser, $^1/_{40}$ Proz. Ammoniumchlorid, $^1/_{20}$ Proz. Stärke und 2 Proz. Agar.

Samen ohne Pilz entwickelten sich in 4 Monaten bis zu einem Durchmesser von 0.45 mm. Auf die Einzelheiten in der Differenzierung dieser pilzfreien Keimlinge sind wir schon früher eingegangen.

Samen mit Pilz entwickelten sich teils überhaupt nicht, teils wie die pilzfreien und teils weiter, wie diese.

Der Form der Verpilzung der Pflanze nach lassen sich die Wurzelpilze folgendermaßen gruppieren.

Es findet statt:

1. Keine Infektion. Die Suspensorzellen der Embryonen bleiben gänzlich pilzfrei. Die Samen verhalten sich, wie die in aseptischer Kultur. So bei O. maculatae, conopeae und araniferae J.

2. Infektion des Suspensors und in selteneren Fällen des Embryo. Die unteren leblosen Suspensorzellen finden sich ziemlich regelmäßig infiziert, hier und dort dringen

die Pilzhyphen auch in die Durchlaßzellen und in die großen Basalzellen des Embryo ein, werden aber sofort von dem Plasma der Pflanze verdaut und getötet. Eine weitere Ausbreitung des Mycels findet nicht statt. Die Keimlinge entwickeln sich etwas weiter, wie die pilzfreien und können z. T. einen Durchmesser von 0,6—0,8 mm erreichen, bleiben aber dann stationär, weil keine nochmalige Infektion stattfindet. In den Durchlaßzellen und den darüber liegenden wird nach Vernichtung des Pilzes eine große Menge Öl gespeichert. Stärke findet sich hier nicht mehr, nur noch in den Chromatophoren des Pflänzchens. Hierher gehören O. labiatae, sambucinae, chloranthae F. und fuscae.

3. Zu schwache Infektion. Die Mehrzahl der Samen bleiben pilzfrei und entwickeln sich dementsprechend. Bei wenigen dringt der Pilz durch den Suspensor in die Zellen des Embryo und bringt unter reichlicher Knäuel- und Klumpenbildung die Samen zur Keimung, die sehr langsam von statten geht und schwach gefärbte, aber sonst normale Pflänzchen liefert. Nach 7 Monaten erreichen sie erst einen Durchmesser von 0,7—1,8 mm, die stärksten besitzen 2 Blätter und eine Reihe von Papillen. Nur bei O. chloranthae G.

4. Normale Infektion. Tritt ein bei O. linguae, O. psychodis, O. harrisiani und einem aus Chysis bractescens isolierten Pilze. Sie ist früher beschrieben worden. Bei harrisiani ist die Entwicklung eine etwas langsamere. Bei allen 4 Pilzen bleiben die an der Glaswand epiphytisch wachsenden Pflänzchen in der Entwicklung zurück, proportional der zunehmenden Trockenheit des Standortes. Die bewurzelten fallen hier in allen Ausmaßen kleiner aus.

5. Etwas zu starke Infektion. Wird sofort angezeigt durch das Zurückbleiben der Keimlinge auf dem Substrat, das relativ gute Gedeihen auf der Glaswand. Die genaue Untersuchung ergibt, daß die Zellen der ganzen unteren Hälfte der vom Pilz auf dem Substrat angetroffenen Embryonen mit Pilzknäueln und Klumpen angefüllt ist. Besonders

letztere sind sehr zahlreich, was beweist, daß die Pflanze ihre Fähigkeit, die Pilze abzutöten nicht verloren hat. Nach 7 Monaten leben die Pflanzen auf dem Substrat noch teilweise, sind aber schon lange stationär geworden. Ihre Wurzelhaarpapillen sind alle verpilzt, der Durchmesser beträgt höchstens 0,8 mm. Blattanlagen finden sich noch nicht.

Viel günstiger liegen die Verhältnisse bei den am Glase epiphytisch wachsenden Pflänzchen. Die Mycelien, die mehrere Zentimeter weit an der Glaswand der Röhre hinaufwachsen, scheinen Mangel an Nahrung zu leiden und sich weniger virulent zu verhalten. Es erklärt sich unter dieser Annahme die Erscheinung, daß das Wachstum der epiphytischen Pflanzen zwar langsam, aber normal fortschreitet. Diese Pflanzen entsenden ihre erste Wurzel erst nach 7—8 Monaten. Die Verzögerung ist wahrscheinlich durch die zu starke Infektion der absorbierenden Organe, der Wurzelhaare und der Papillen, bedingt, die meist abgestorben und gebräunt, wenig zur Nahrungsaufnahme mithelfen dürften. Hierher gehören die Pilze O. arachnitis, apiferae und araniferae R.

6. Noch stärkere Infektion finden wir bei O. musciferae. Die Embryonen erreichen hier noch nicht einmal die Dicke der pilzfreien. Sie werden gleich im Anfang zu $^1/_2 - ^3/_4$ ihrer Länge infiziert, bleiben noch eine kurze Zeit grün, und sterben endlich von unten herauf ab, noch ehe ihr Durchmesser 0,35 mm überschritten hat. Am Glase wissen sie sich 7 Monate zu halten und sind bei einem Durchmesser von 0.5 mm noch am Leben.

7. Sofortige Abtötung der Samen erfolgt bei O. tenthrediniferae. Der Pilz zeichnet sich schon in freier Kultur durch seinen raschen und üppigen Wuchs aus. Enzymatisch unterscheidet er sich von allen anderen durch die stark ausgeprägte Fähigkeit, Zellulose anzugreifen. Es ist somit nicht zu verwundern, daß er die Zellen der Embryonen sofort mit seinem Mycel durchdringt und tötet.

Nach der eben gegebenen Darstellung könnte man an-

nehmen, daß die Orchideenwurzelpilze fast alle fähig seien, Orchideensamen zur Keimung zu bringen, daß allein ihre Virulenz, eine quantitative Bestimmung, von Einfluß sei.

Dem ist jedoch sicher nicht so. Bei den Pilzen unter 2. darf man nicht ohne weiteres auf ihre Schwäche schließen, die es ihnen unmöglich macht, sich in der Zelle gegenüber dem Plasma zu behaupten. Wie die cytologischen Vorgänge lehren, tritt die Verdauung der Pilzhyphen erst ein, wenn die Zelle einen größeren Komplex davon beherbergt. Der Moment ist durch das Verhalten des Zellkerns, der bei der Verdauung unmittelbar beteiligt ist, genau bestimmt. Erst wenn dieser seine zentrale Position in der Zelle mit einer peripheren vertauscht hat und der Zellwand anliegt, sehen wir die ersten Anzeichen der Verdauung. Das Eintreten dieses Phänomens ist möglicherweise gebunden an einen von dem Mycel auf die Zelle ausgeübten Reiz, der erst nach Erfüllung der ganzen Zelle durch das Mycel erfolgt.

Daß nun eine ungeeignete Qualität eines Pilzes diesen Reiz sofort beim Eindringen in die Zelle auslösen sollte, ist zwar eine Annahme, aber eine solche, daß sie außerordentlich gut zu den gegebenen Verhältnissen paßt. Stimmt sie mit den objektiven Verhältnissen überein, dann werden wir unter der Rubrik 2. Pilze ungeeigneter Qualität sehen dürfen, zumal uns ein Fall sicherlich zu schwacher Verpilzung in Nr. 3 vorliegt, der ganz anders ausschaut, wie die Fälle unter 2. Hier sind nur wenige Embryonen überhaupt verpilzt, diese aber gedeihen, wenn auch langsam; in anderen Fällen sind alle infiziert, gedeihen aber nicht. Was die Frage nach der Art der Verschiedenheiten unter den Pilzen anbetrifft, so muß man sie wohl in Unterschieden des Stoffwechsels suchen, besonders in den Äußerungen dieses Stoffwechsels, den Enzymen und anderen Stoffwechselprodukten. Im einzelnen die Gründe zu dem Verhalten der Samen gegen die Pilze aufzufinden, ist uns natürlich unmöglich. Stoffwechsel und enzymatische Qualität der einzelnen Formen müßten viel genauer untersucht sein.

Daß es sich nur um wenige Eigenschaften des Pilzes handeln kann, und nicht etwa um alle, die ihn zu einem geeigneten Keimungspilz machen, scheint aus der tatsächlich verschiedenartigen enzymatischen Qualität unserer drei besten Keimungspilze, O. linguae, psychodis und harrisiani hervorzugehen. Linguae invertiert Sacharose und nicht Maltose, psychodis Maltose und nicht Sacharose, harrisiani invertiert Maltose und unterscheidet sich von den anderen beiden, wie von allen übrigen durch einen auf allen Substraten auftretenden intensiven Geruch nach einem Fruchtäther.

Am Ende mag noch einer anderen Möglichkeit gedacht werden. Es brauchen überhaupt nicht alle aus den Wurzeln isolierte Pilze Keimungspilze sein, es wäre auch möglich, daß manche nur erst der Wurzelsymbiose mit der Pflanze fähig, sich auf einer dem Saprophytismus noch nahestehenden Entwicklungsstufe befänden. Der Pilz der Ophrys tenthredinifera scheint dies zu illustrieren.

Bernard nähert sich (06) dieser ihm sonst fremden Ansicht insoweit, als er die von uns ebenfalls festgestellte Möglichkeit annimmt, daß eine Pflanze mehrere und auch zur Keimung ungeeignete Wurzelpilze beherbergen kann. Er wählt allerdings ein unglückliches Beispiel, nämlich das Nichteintreten der Keimung von Spiranthessamen in Kultur mit ihrem eigenen Wurzelpilz. Keimten doch alle Samen einheimischer Orchideen nicht, trotz Kultur mit ihren entsprechenden Pilzen.[1])

[1]) Zum Beweis für diese Tatsache bringen wir hier eine Tabelle aller angestellten Versuche. Die Samen entnahmen wir den außen aseptisch gemachten Kapseln und übertrugen sie auf ein Substrat, das außer $1^1/_2$ Proz. Agar enthielt: 1 Teil mineralische Nährlösung, 1 Teil Wasser, $^1/_{40}$ Proz. Ammoniumchlorid und eine Spur Salep. Die betreffenden Wurzelpilze wurden hinzugebracht, und die Kulturröhren in verdunkelten Kästen in ein Treibhaus gestellt, in dem die Temperatur von 16—20 ° schwankte. Hier blieben sie vom Oktober 07 bis zum September 08, ohne daß eine einzige Keimung eintrat. Die folgende Tabelle gibt die angestellten Kombinationen von 17 Samensorten (alle von 1907) und 10 Wurzelpilzen; zusammen 124.

In fünf Kombinationen treffen sich Samen und Pilz derselben Pflanze:

g) Die Degeneration der Orchideenpilze.

In seiner letzten Arbeit, einem Vortrag, der auf der Gartenbauausstellung in Gent 1908 gehalten, jetzt gedruckt vorliegt, hat Bernard eine Entdeckung veröffentlicht, die, wenn auch von großem Interesse, den Praktikern der Orchideenkultur, die viel von den neuen Methoden Bernards für die Erfolge ihrer Saaten erwarteten, keineswegs angenehm sein konnte. Bernard hat gefunden, daß längere Zeit außerhalb der Pflanze kultivierte Keimungspilze ihre Fähigkeit, die Samen einer Orchidee zur Keimung zu bringen, ganz oder teilweise verloren. Mit diesen Erscheinungen, der Degeneration des Wurzelpilzes hat er sich in den letzten Jahren beschäftigt und veröffentlicht in seinem Vortrag ein sehr instruktives Experiment mit Cattleyasamen.

Ein Pilz, der vor 17 Monaten isoliert, während dieser außerhalb der Pflanze gelebt hatte, vermochte kaum die ersten Keimungsstadien bei Cattleya hervorzurufen: hatte er jedoch

Samen:	Pilze: lab. = labiatae, chl. F. = chloranthae F., s. = sambucinae, tenthr. = tenthrediniferae, ap. = apiferae, aran. R = araniferae R., m. = musciferae, f. = fuscae, ps. = psychodis.
Orchis morio	lab., chl. F., s., ap., ar., m., ps.
„ militaris	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
„ fusca	ap., f., ps.
„ sambucina	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., m., f., ps.
Ophrys muscifera	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
„ apifera	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
„ aranifera	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
„ Bertolonii	lab., chl. F., s., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
„ aranifera × Bertolonii	lab., chl. F., s., aran. R., ar.
Gymnadenia conopea	chl. F., s.
Platanthera chlorantha	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
Neottia nidus avis	lab., chl. F., s., tenthr., ap., aran. R., ar., m., f., ps.
Epipactis rubiginosa	lab., chl. F., s., ap., f.
Corallorhiza innata	lab., chl. F., ap., f.
Cypripedium spectabile	lab., chl. F., m., f.
„ calceolus	lab., chl. F., s., ap., aran. R., ar., f., ps.
„ pubescens × guttatum	lab., chl. F., s., ap., aran. R., ar., f., ps.

während der 17 Monate 9 Monate in Laelio-Cattleyapflänzchen zugebracht, so veranlaßte er ein besseres Resultat; in einem dritten Falle hatte er fast die ganzen 17 Monate in den Pflänzchen gelebt und brachte die Samen zur normalen Keimung. Die in Bernards Vortrag enthaltene Tafel gibt die Resultate der drei Versuchsreihen im Bilde wieder.

Bernard kommt in Betrachtung dieser Erscheinung zu Schlüssen, die für die Praxis deprimierend sind. Um einen Pilz dauernd virulent zu halten, damit er jederzeit, zu Aussaaten von Samen hinzugegeben, sie zur Keimung bringt, muß er ständig in Keimpflanzen kultiviert werden. Keimpflanzen können aber nicht an allen Orten immer vorhanden sein: auch ist die Isolierung des Pilzes Sache eines Fachmanns und kann bequem eigentlich nur an einem botanischen oder bakteriologischen Institut ausgeführt werden. Für die Praktiker wäre also der Pilz nur von einer sich eigens mit dieser Sache beschäftigenden Zentralstation erhältlich, an deren Entstehung in einigen Jahrzehnten Bernard nicht zweifelt.

In meinen Pilzkulturen hat sich das Phänomen bis jetzt noch nicht eingestellt. Der zuerst isolierte „Cattleyapilz" O. psychodis hat heute nach einer 26monatigen andauernden Kultur auf Stärkeagar (lösliche Kohlehydrate werden meinen Stammkulturen ängstlich vorenthalten, da die anscheinend zur „Virulenz" notwendige Diastasebildung beim Wuchs auf diesen Substraten eingestellt werden könnte) seine volle Fähigkeit behalten und bringt die Samen von 9 verschiedenen Laelio-Cattleyen und Cattleyen zur Keimung. Ähnlich verhalten sich „Odontoglossumpilze". Der vor 24 Monaten aus Platanthera chlorantha isolierte O. chloranthae F. löst die Keimung von Miltonia × Odontoglossumsamen aus. Trotz dieser Tatsachen halten wir es für sehr wohl möglich, daß auch bei unseren Kulturen nach und nach ein Schwinden der Kraft bemerkbar wird, dies wird jedoch eine fortwährende Kultur von Keimpflanzen noch lange nicht nötig machen, da eine Neuisolierung aus der Mutterpflanze leicht, und uns auch unsere einheimischen

Orchideen wohl in vielen Fällen Pilze für die Aussaaten der Samen tropischer Orchideen liefern werden. Wenn wir erst genauer über die wesentlichen Eigenschaften des virulenten und des degenerierten Pilzes Bescheid wissen, wird es möglicherweise auch gelingen, die Erscheinung der Degeneration lange hintanzuhalten.

C. Die intrazellulären Vorgänge in der erwachsenen Pflanze.

Von allen Gruppen mycotropher Gewächse sind die Orchideen am häufigsten auf die histologischen Verhältnisse ihrer Mycorrhiza untersucht worden. Trotzdem sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen noch nicht geeignet, ein einigermaßen vollständiges Bild der Sache zu geben, die noch viele interessante Tatsachen bergen dürfte. Botaniker aus allen Disziplinen haben bei dem Zusammentragen des Materials mitgeholfen; die älteren Anatomen studierten den eigenartigen Bau der mycotrophen Gewächse, insbesondere der Holosaprophyten, hie und da lassen sie eine Bemerkung über jene ihnen noch ihrem Wesen nach unbekannten gelblichen Massen in den Zellen von Wurzeln und Rhizomen der Orchideen fallen. Die Entstehung dieser Klumpen aus den Hyphen des schon früher bekannten Pilzes im Innern der Zellen stellte Wahrlich (86) zuerst fest und gab damit die Anregung zur genaueren Erforschung des Phänomens. Magnus (00) drang endlich mit den Methoden moderner Zellpathologie in den Gegenstand ein, seine Arbeit enthält eine Übersicht über die Entwicklung unseres Wissens in dieser Frage, auf die wir hier verweisen. Wir wollen uns mit Hilfe des Vorliegenden und einiges neu Hinzuzutragenden bemühen, uns eine möglichst objektive Ansicht in der Sache zu erwerben, um auf ihr fußend unsere allgemein biologischen Schlüsse zu ziehen. Beginnen wir mit einer Sichtung des Materials.

Von einheimischen Holosaprophyten sind als Objekte vieler Untersuchungen zu nennen Neottia nidus avis und Corallorhiza innata, die erstere behandelt von vielen Forschern und schon seit langer Zeit, zuletzt in der umfassenden Arbeit von Magnus (00), die andere von Reinke (73), Jennings und Hanna (00) und Mac Dougal (99). Angaben über die Form der Verpilzung unserer einheimischen grünen Orchideen finden wir in den Schriften von Mollberg (84), Wahrlich (86), Dangeard und Armand (97), Chodat und Lendner (98), Stahl (00), Magnus (00), Marcuse (02). Für die terrestrischen Exoten dienen uns als Quellen die Arbeiten von Johow (85, 89), Mac Dougal (98. 99), Groom (94), Holm (00), Janse (96), für die Epiphyten, über die nur eine sehr spärliche Literatur vorliegt Mollberg (84), Wahrlich (86), Janse (96), Cavara (97) und Cordemoy (04).

Terrestrische Orchideen.

1. Die neottioide Mycorrhiza.

a) *Neottia nidus avis.*

Zwei Typen treten uns bei der Mycorrhiza der einheimischen holosaprophytischen Orchideen entgegen, die von Neottia nidus avis, und die von Corallorhiza innata.

Die Verhältnisse bei Neottia seien an Hand der Magnusschen Arbeit kurz charakterisiert. Der Pilz befindet sich in dem Rhizom und den aus diesem exogen entspringenden wurzelhaarlosen Wurzeln. Die einmalige Infektion erfolgt durch die Zellen des Suspensorpoles des Samens (cf. Bernard 02) und der Pilz dringt in die peripheren Gewebe der Keimachse, um von da die entstehenden Wurzeln zu erreichen. In diesen bleiben Zentralzylinder und Epidermis pilzfrei, ersterer gänzlich, in letzterer werden selten infizierte Zellen angetroffen. Die Pilze in den Zellen können sich auf zwei Modi differenzieren. Gewöhnlich zeigt die subepidermale und die an den Zentralstrang grenzende Schicht in ihren Zellen „die Differenzierung des Pilzes mit", die dazwischen liegende „die

Differenzierung ohne Degeneration": diese bezeichnet Magnus mit „Pilzwirtzellschicht", jene mit „Verdauungszellschicht". Der vom Rhizom aus der Spitze der Wurzel in gemessenem Abstande folgende, das Meristem freilassende Pilz infiziert die Zellen gleichmäßig, um sodann die eine oder die andere Entwicklungsform zu nehmen.

In der Peripherie der Pilzwirtzellen entstehen einige Windungen dicker „Ringhyphen", die dünnere Seitenhyphen („Haustorienhyphen") ins Innere der Zelle entsenden und auch von ihnen berindet werden. Der Zellkern, der schon vor der Infektion der Zelle sich vergrößert hat und in die Mitte gerückt ist, läßt sein Chromatin, das ursprünglich in feiner Verteilung auf dem Gerüstwerk sichtbar war, zunächst zu sternförmigen, später abgerundeten nur undeutlich durch Fäden verbundenen Aggregaten zusammentreten.

In den Verdauungszellen bildet der Pilz einen dicht verfilzten Knäuel aus gleichmäßig dicken relativ wenig septierten Hyphen. Der Kern hat sich auch hier in die Mitte der Zelle begeben und sich wie in den Pilzwirtzellen verändert, nur ist er noch größer geworden. Ist die Zelle gänzlich von Mycel erfüllt, wandert er, wie eine Amoebe lappige Fortsätze entsendend, durch die Pilzmasse wieder an die Zellwand, um hier seine verdauende Tätigkeit aufzunehmen. Das Chromatin sammelt sich auf der dem Knäuel zugekehrten Seite, der Kern legt sich fest an den Knäuel an, umfaßt ihn bisweilen mit seinen Fortsätzen und sendet auch solche in ihn hinein. Man bemerkt, daß die Hyphen in der Nachbarschaft kollabieren: die Klumpenbildung hat begonnen. Häufig sucht der Pilz dem drohenden Verderben zu entgehen, indem er in manchen Hyphenstücken einen Teil seiner Reservesubstanzen aufspeichert. Diese sich stark mit Anilinfarbstoffen färbenden „Eiweißhyphen" zeigen durch Ausbeulungen und kurze Fortsätze an, daß ihnen das Auskeimen unmöglich geworden. Endlich wird auch ihr Inhalt absorbiert und der Kern umgibt die toten Reste, die Klumpen, sie umwandernd mit einer

Membran aus zelluloseähnlicher Substanz und in gleicher Weise die die Zellwände perforierenden, ehemals die Knäuel miteinander verbindenden Hyphen, so daß die fertigen Klumpen in der Zelle an Fäden suspendiert erscheinen. Ist der Klumpen gebildet, bewegt sich der Kern wieder nach außen an die Zellwand und rundet sich ab. Sein Chromatin nimmt wieder eine regelmäßigere Verteilung ein. Der tote Klumpen hängt nun von einer Plasmahaut umgeben inmitten zahlreicher großer Vacuolen, ohne der Lebenstätigkeit der Zelle Eintrag zu tun.

Die biologische Deutung dieses eigenartigen Prozesses bringt viele Schwierigkeiten mit sich. Einig sind alle Forscher, daß ein Zusammenhang zwischen Saprophytismus und Verpilzung bestehen muß. Die Cytologen Magnus und Shibata — der letztere studierte analoge Verhältnisse bei Psilotum — begnügen sich anzunehmen, daß die Pflanze durch die Verdauung des eiweißreichen Pilzes stickstoffhaltige Stoffe erhält, die sie in anderer für sie unbrauchbarer Form dem Humus entnahm. Die alte von Pfeffer aufgestellte, von Frank erweiterte, von Mac Dougal durch umfangreiche anatomische Arbeiten als den Befunden entsprechend gefundene, von Stahl endlich in ihrer ganz allgemeinen und durchgreifenden Bedeutung biologisch verstandene Hypothese vom Ersatz der Wurzelhaare durch den Mycorrhizapilz scheint einer selbständigen Aufnahme komplizierter Stoffe seitens der Pflanze zu widersprechen. Neottia nidus avis wurde von Magnus zum ersten Male mit den Mitteln moderner Technik untersucht, ein Stein des Anstoßes für die erwähnte Hypothese: Die anatomischen Befunde ergaben den Mangel genügend umfangreicher Pilzleitungsbahnen, die einer Übertragung im Humus vom Pilz assimilierter Stoffe auf die Pflanze hätten das Wort reden können. Die Absicht der Lösung dieses ganz elementaren Widerspruchs mag unsere Auswahl der zu erwähnenden anatomischen Einzelheiten im folgenden beeinflussen, biologische Betrachtungen sollen dabei so viel als möglich vermieden werden, da wir sie erst anstellen wollen, wenn alle Seiten des

gesamten Problems, nicht nur jene Einzelfrage, an uns vorbeigezogen sind.

Sprechen wir diese letztere aus: Sind die Pilzverbindungen des Mycels im Innern der Neottiawurzel mit dem im umgebenen Humus saprophytisch lebenden wirklich zu unbedeutend, um eine Aufnahme der Nahrungsstoffe durch sie unmöglich zu machen? Marcuse hat die Frage bei einer Anzahl von Orchideen zu beantworten gesucht, auch bei Neottia, und nimmt an, daß die vorhandenen spärlichen Ausstrahlungen des Pilzes deshalb für die Nahrungsaufnahme genügen sollen, weil die Entwicklungsdauer bei Neottia eine viel längere sei, als bei anderen Saprophyten, z. B. Corallorhiza und Epipogon, die beide einen ganz auffallenden Kontakt durch die ihre Wurzelhaare durchsetzenden Hyphen mit dem Boden besitzen. Dem können wir, so sehr wir seine Beobachtungen bei den anderen Orchideen schätzen, für Neottia nicht beistimmen. Einmal bestätigte uns wiederholte Nachuntersuchung das seltene und ganz unregelmäßige Auftreten der Kommunikationen, zum anderen sind die Befunde Bernards bei den Keimpflänzchen der Neottia solche, daß sie jene Annahme ausschließen. Bernard erwähnt die gänzliche Indemnität der Epidermis jener rübenförmigen wurzelhaarlosen Keimachsen, die in den inneren Schichten die gewöhnliche Differenzierung des Pilzes zeigen. Und gerade hier, wo die Gestaltung der Pflanze die geringste Oberfläche mit sich bringt, wäre doch wohl eine ganz ausgeprägte Ausstrahlung der Pilzhyphen zu erwarten.

Können wir aber, wenn wir die Möglichkeit der Absorptionstheorie bei Neottia bestreiten, uns ganz der Umwandlungstheorie von Magnus zuwenden? Wir glauben auch die seine bestreiten zu müssen. Sie gibt nur die Erklärung für den Erwerb stickstoffhaltiger, kompliziert gebauter, schwach oxydierter Körper, die die zu diesem Zweck natürlich mit entsprechenden osmotischen Fähigkeiten ausgestattet gedachte Epidermis aufnimmt, die der Pilz dann verändert und in geeig-

neter Form bei der Verdauung wieder abgibt. Nun bezieht die Pflanze aber auch fast ihre gesamten Kohlenhydrate direkt aus dem Humus, wie außer Drudes klassischen Experimenten die Tatsache beweist, daß sie erst im blühfähigen Zustand über dem Erdboden erscheint. Für einen bedeutenden Gewinn an solchen Stoffen sprechen aber die anatomischen Tatsachen keineswegs. Im Gegenteil sehen wir ganz allgemein in allen Zellen Stärke beim Eindringen des Pilzes verschwinden, die die Pflanze in den Verdauungszellen nur zum Teil wiedererlangen dürfte, zumal sie auch hier bei der Berindung des Klumpens der Kohlenhydrate bedarf. Die Möglichkeit eines Ersatzes vom Bodenmycel des Pilzes aus negiert, erscheint jede Aussicht auf eine Lösung der Frage verschlossen.

Wir müßten denn der Pflanze eine ganz außerordentliche Fähigkeit in der Löslichmachung und Absorption der Kohlenhydrate zuerkennen; und das scheint zunächst unmöglich, weil es aller Analogie bei den höheren Gewächsen entbehrt.

Oder ist es vielleicht doch nicht so unmöglich? Es gäbe wohl eine Erklärungsweise, aber wir wollen nicht vorgreifen.

Der Neottia ähnliche Typen in der Verpilzung sind genauer noch nicht bekannt geworden. Wir dürfen wohl annehmen, daß außer anderen Arten der Gattung solche existieren. Johow erwähnt in seiner später teilweise zu zitierenden (89, S. 489 e. s.) Zusammenstellung der bei Holosaprophyten vorkommenden Formen der unterirdischen Organe unter *e* und *f* Angehörige Neottia-ähnlicher Gattungen, denen die Wurzelhaare fehlen sollen.

An Neottia nidus avis schließt sich eine Reihe von Mycorrhizaformen an, die sich durch weniger weitgehende Differenzierung des Pilzes in den Zellen der Pflanze und durch eine reichliche Kommunikation des Endophyten mit dem Mycel im Substrat unterscheiden, und zu der die Mehrzahl aller Orchideen zu gehören scheint. Die Pilze sind in allen bis jetzt bekannten Fällen zum Gegensatz des Neottiapilzes leicht

in freier Kultur zu erhalten. Sie gehören, soweit bekannt, in eine einheitliche Gruppe, die wir mit der Bezeichnung Orcheomyces belegten. Beginnen wir mit den am genauesten untersuchten

b) *Ophrydinae.*

Neottia nidus avis scheint in ihrer Mycorrhiza, wenigstens was die anatomischen Befunde anbetrifft, am nächsten verwandt mit den Ophrydeen, wenn auch nicht in der Funktion. Die schnallenlosen, wohl zur Gruppe der Ascomyceten gehörigen Pilze beider Formen zeigen sich in gleichartiger Verbindung mit der höheren Pflanze. Die Differenzierung in Pilzwirt- und Verdauungszellen wird bei keiner anderen Form so ausgeprägt gefunden, wie bei diesen beiden Typen. Die später zu beschreibende coralloide Mycorrhiza steht, obgleich sie die Pflanze zu vollständigem Saprophytismus befähigen kann, in ihrer äußeren Differenzierung weniger hoch.

Statt die bereits von anderen Untersuchern festgelegten Tatsachen zu resumieren, wollen wir eine Pflanze, deren Pilzverhältnisse wir näher studierten, in den Mittelpunkt der Betrachtung stellen, um dann andere mit ihr zu vergleichen. Wir erbitten die Entschuldigung des Lesers wegen der vielen bei einer Neuuntersuchung nötigen Angaben von Einzelheiten, die z. T. aus dem Rahmen dieses Kapitels herausfallen.

α) Platanthera chlorantha Custer (Orchis montana Rchb. fil.)

ist an feuchten Stellen der Jenenser Laub- und Nadelwälder allenthalben häufig. Als eine ausgesprochene Humusorchidee wagt sie sich nie an vom Baumwuchs entblößte Standorte. Ihre zur Zeit der Blüte über der älteren der beiden Wurzelknollen am Rhizom vorhandenen Wurzeln verlaufen fast horizontal, zuweilen sogar schief aufwärts in den umgebenden Blatt- oder Nadelhumus. Die von der Knolle ausgehende Pfahlwurzel dringt senkrecht in den Boden ein und sorgt für eine Befestigung der Pflanze unter der lockeren Humusschicht im festen Boden. Diese mehreren verwachsenen Wurzeln

homologe Pfahlwurzel unterscheidet die Platanthera-Arten bedeutsam von anderen weniger auf die Vegetation im Humus angewiesenen Ophrydeen. Orchis latifolia, maculata und die Arten der Gattung Gymnadenia greifen zwar auch mit den Fingern ihrer handförmigen Knolle abwärts und verankern so die Pflanze, doch findet man häufig genug die Wurzeln wieder nach oben umgebogen und in den Humus zurückwachsend. Diesem Verhalten entsprechend sind sie meist verpilzt, während die Pfahlwurzel von Platanthera selten Pilze zeigt.

An den Wurzeln der Platanthera chlorantha ist Zeit ihres Lebens eine regelmäßige und weit differenzierte Verpilzung zu beobachten. Im August nach der Ausbildung der Samen besteht die Pflanze allein noch aus der für das nächste Jahr bestimmten Knolle, die die Organe des reproduktiven Sprosses bereits in der Anlage enthält. An dieser hängt noch die alte ausgesogene Knolle, die außer dem Fruchtstiel noch ihre im Absterben befindlichen Wurzeln trägt. Dieses Entwicklungsstadium sei der Ausgangspunkt unserer Betrachtung. Der neue Teil der Pflanze ist in diesem Augenblick gänzlich pilzfrei, da das Rhizom den Pilz nicht beherbergt. Die neuen Wurzeln wachsen vom August an aus und erreichen Anfang September eine Länge von 1—3 cm und eine Dicke von 3—4 mm an der Basis zu 2—3 mm an dem Vorderende. Sie tragen zahlreiche Wurzelhaare, durch welche jetzt die Infektion erfolgt. Ist die Verpilzung eines Wurzelteiles eingetreten, so läßt sie sich an der etwas gelblichen Färbung und an der Verdickung der Wurzel erkennen. Die in die Länge wachsende Spitze der Wurzel bleibt frei vom Pilz, erst hinter ihr erfolgt die Einwanderung und Ausbreitung des Mycels in den Rindenschichten. Der Pilz wächst nur sehr langsam in der Längsrichtung der Wurzel fort, wie gelegentlich angetroffene pilzfreie Stellen der Wurzel beweisen; es findet statt dessen am Zuwachs der Wurzel immer neue Infektion von außen statt. Im Juni haben die Wurzeln ihre größte Länge von 8—12 cm erreicht und fallen nach Ausbildung der Samenkapseln des

Schaftes Ende August mit ihrer Knolle der Vernichtung anheim, während die im Herbst angelegte, im Frühjahr hervorgeschobene, nunmehr erwachsene Tochterknolle den Entwicklungsgang wiederholt.

Die Pilze, die in den Wurzeln der Pflanze angetroffen werden, sind verschiedener Art. Einmal ließen sich zwei Formen aus Pflanzen verschiedener Standorte kultivieren, die früher beschriebenen O. chloranthae F. und O. chloranthae G., welche bei ihrer annähernd gleichen Hyphendicke dasselbe Bild der Mycorrhiza (Fig. 32) hervorbringen. Zum anderen fand sich einige Male in den Wurzeln der Pflanze ein nicht kultivierter feinhyphiger Pilz vor, der sich in seiner Funktion ebenfalls nicht

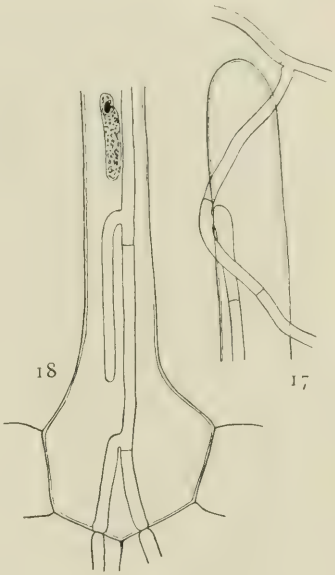


Fig. 17. Platanthera chlorantha. Die Infektion eines Wurzelhaares in der Nähe der Spitze. 335 : 1.
Fig. 18. Infektionshyphen vom Wurzelhaar in das Rindengewebe der Wurzel unter mehrmaliger Verzweigung eindringend.

von den anderen unterschied. Die Verpilzung durch die ersten beiden Pilze erscheint als die normale und soll daher zuerst betrachtet werden.

Eine aus dem Substrat kommende Hyphe trifft, anscheinend chemotropisch angelockt, ein Wurzelhaar in der Nähe der Spitze, perforiert unter deutlicher Appression die Wand und dringt in das Innere, um schnurstracks auf die Wurzel zuzuwachsen (Fig. 17). Hierbei kommt es häufig zur Verzweigung (Fig. 18). Die Ausbreitung des aus etwa 4 μ dicken Hyphen bestehenden Mycels findet nach dem Eindringen der Infektionshyphen in die Wurzelzellen zuerst in den drei subepidermalen Schichten statt. Die äußerste unter der Epidermis gelegene bleibt pilzfrei, wie jene selbst, die zweite und dritte

füllen sich mit locker verschlungenen, regelmäßig septierten und sich häufig verzweigenden Hyphen, deren Inhalt eine gleichmäßige, an den Querwänden scheinbar etwas stärkere Affinität zu Hämatoxylin besitzt, und deren Durchmesser, anfangs derselbe wie der der Infektionshyphe, nach längerem Aufenthalte in der Pflanze auf 5,2—5,5 μ wächst. Die Hyphen

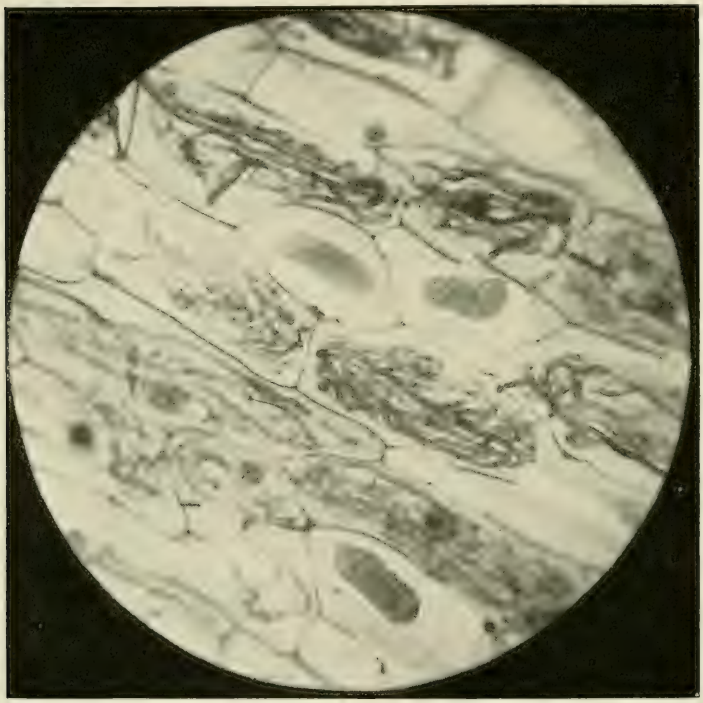


Fig. 19. Platanthera chlorantha. Tangentialer Längsschnitt durch die Pilzwirtzellschicht der Wurzel mit Pilzwirtzellen und Raphiden-Schleimzellen. 160 : 1.

dieser Gewebe fallen nie der Vernichtung durch das Pflanzenplasma anheim, sie stellen den reproduktionsfähigen Teil des Verpilzungskomplexes dar. Wir bezeichnen die von ihnen erfüllten Zellen analog den Verhältnissen bei Neottia mit Pilzwirtzellen (Fig. 19). In den subepidermalen Pilzwirtzellschichten breitet sich das Mycel gleichmäßig nach allen Richtungen aus, doch ohne in den einzelnen Zellen seine Masse weiter zu ver-

größern und dichtere Knäuel zu bilden. Es vermeidet auf seinem Weg die in dieser Schicht zahlreichen mit Schleim und Raphiden angefüllten Zellen, hinter deren Wänden sich keine Nahrung birgt. Von der Pilzwirtschicht aus erfolgt fast gleichen Schritt mit ihrem Wachstum haltend die Invasion der inneren großzelligen Rindenschichten der Wurzel.

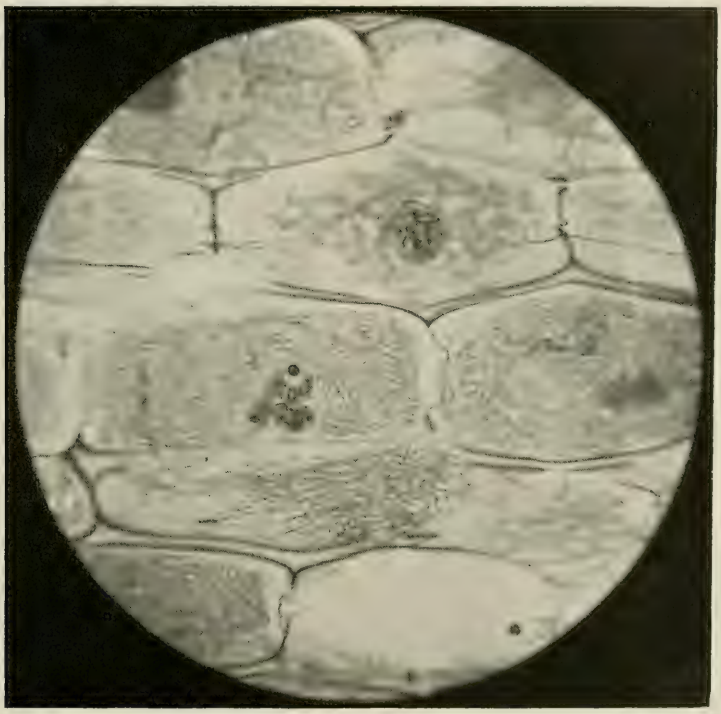


Fig. 20. Platanthera chlorantha. Tangentialer Längsschnitt durch die Verdauungszellschicht. In der mittleren Zelle der oberen Hälfte der Beginn der Verdauung 160 : 1.

Der Moment des Übergangs ist von besonderem Interesse. Verfolgt man die aus einer Pilzwirtzelle meist durch einen Wandtüpfel in eine der nach innen liegenden stärkereichen Zellen, die wir gleich mit Verdauungszellen (Fig. 20) bezeichnen wollen, verlaufende Hyphe, so findet man, daß sie ihre Eigenschaften, den regelmäßigen Durchmesser und die Tinktionstähigkeit mit Hae-

matoxylin, bereits nach einer oder zwei in der Verdauungszelle[1]) absolvierten Windungen verliert. Wir sehen sie sofort nach ihrem Eintritt ihren Durchmesser bisweilen auf das Doppelte vergrößern und gelegentlich Anschwellungen, überhaupt weniger Regelmäßigkeit in Wuchs und Ausgestaltung zeigen. Es tritt augenscheinlich eine starke Hypertrophie ein, die eine ungeheure Mate-

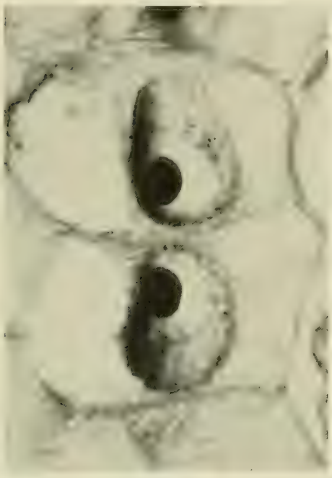


Fig. 21. Platanthera chlorantha. Meristematische Kerne der Verdauungsschicht. Das Chromatin nach innen zu angehäuft. 450 : 1.[2])

Fig. 22. Platanthera chlorantha. Die Entstehung neuer Nucleolen. 450 : 1.

rialverschwendung des Pilzes mit sich bringt. Die ganze Zelle wird mit so dichten Pilzmassen angefüllt, daß der im Centrum suspendierte Kern von den Hyphen in ganz absonderliche Formen gequetscht wird. Die Vermehrung der Pilzmasse wird augenscheinlich ermöglicht durch die große Menge des aus der Stärke durch

[1]) Die Untersuchung der Mycorrhiza wurde teils an Hand-, teils an Mikrotomschnitten vorgenommen. Letztere wurden nach Fixierung der Objekte mit Juelscher Flüssigkeit (cf. Juel 04) mit Haematoxylin-Eisenalaun und Eosin gefärbt, was von verschiedenen angewandten Färbeverfahren die besten Resultate lieferte.

[2]) Dieses und die folgenden Kernbilder mit den Vergrößerungen 450 und 900 wurden mit Zeiß. Hom. Immers. Apochrom. N. Apert. 1.40 Äqiv. Brennw. 4 mm und den Kompensationsokularen 6—12 photographiert. Färbung mit Haematoxylin-Eisenalaun und Eosin-Nelkenöl. Konservierung in Kanadabalsam.

die Diastase des Endophyten frei gemachten Zuckers. Zuweilen sieht man die Stärke in den Zellen schon vor dem

Fig. 23. Platanthera chlorantha. Hyperchromatischer Kern einer Verdauungszelle vor der Einwanderung des Pilzes. 450 : 1.

Fig. 24. Platanthera chlorantha. Schnitt durch einen ebensolchen mit Stärke umlagerten Kern mit vacuolisiertem, etwas aus seiner Lage verschobenen Nucleolus. 900 : 1.

Fig. 25. Platanthera chlorantha. Hyperchromatischer Kern einer Pilzwirtzelle vor der Infektion. 450 : 1.

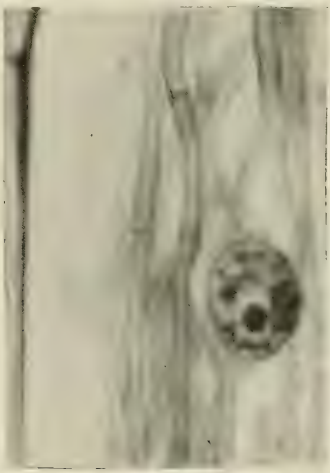


Fig. 26. Platanthera chlorantha. Ebensolcher Kern nach der Infektion. 450 : 1.

Eindringen der ersten Hyphen verschwinden; diese auch von Bernard u. a. beobachtete Erscheinung scheint die Diffusionsmöglichkeit des Enzyms zu beweisen. Die Wirkung der durch die Lösung der Stärke in der Pflanzenzelle veränderten Faktoren läßt sich bei beiden Symbionten konstatieren. Der Pilz reagiert auf die von ihm selbst ausgelöste höhere osmotische Aktivität der Lösung des Zellsaftes und auf den Überfluß an Nahrung in gleicher Weise durch die Hypertrophie seiner Hyphen. Aus dem dabei notwendigerweise sich einstellenden gänzlichen Verbrauch aller stickstoffhaltigen Reservestoffe des Pilzplasma erklärt sich die schwächere Affinität des Mycels in den Verdauungszellen für den Farbstoff. Die Pflanzenzelle wird durch die erhöhte Konzentration des Zellsaftes zu einer auffallenden Vergrößerung ihres Volumens angeregt, die sich schon in einiger Entfernung vom Infektionsherde bemerkbar macht. Die eintretende Verdickung des infizierten Wurzelstückes ist hierdurch veranlaßt.

Die Kerne des Urmeristems der Wurzel geben, die sehr frühzeitig degenerierenden Kerne der mit Rhaphiden und Schleim gefüllten Zellen nicht gerechnet, fünf Formen von Kernen den Ursprung. Zwei von diesen kommen unter normalen Verhältnissen nicht mit dem Pilz in Berührung; es sind die Kerne des zentralen Leitbündels und die der Epidermis, die einen von der vielfachen Länge ihres Durchmessers, mit einem Nucleolus in einer Verdickung ihres Körpers, die anderen sehr klein und von normalem Aussehen. Die drei übrigen Kernformen, die der Wurzelhaare, des Pilzwirtgewebes und der Pilzverdauungsschicht machen alle schon vor der Berührung mit dem Pilz eine Veränderung im gleichen Sinne durch. Ihre Chromatinmassen, die im Wurzelmeristem alle in den nach innen gelegenen Teilen des Kerns aufgestapelt dem mikroskopischen Bild eine auffallende Eigenschaft verleihen (Fig. 21), lösen sich hinter dem Meristem zu fein im Kernplasma verteilten Körnchen auf (Fig. 22), um sich dann wieder zu größeren, durch ein nur zuweilen sichtbares Netzwerk ver-

bundenen Aggregaten zu vereinigen (Fig. 23). Zugleich hat sich der Kern bedeutend vergrößert, in den Pilzwirtzellen von

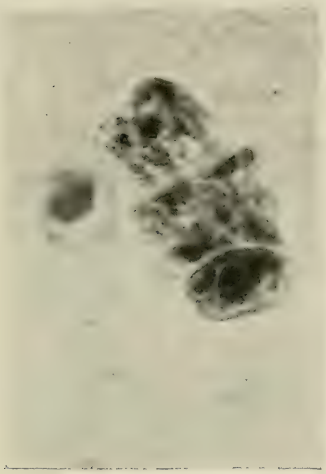


Fig. 27. Platanthera chlorantha. Von Hyphen zusammengeschnürter Kern einer Verdauungszelle. 450 : 1.

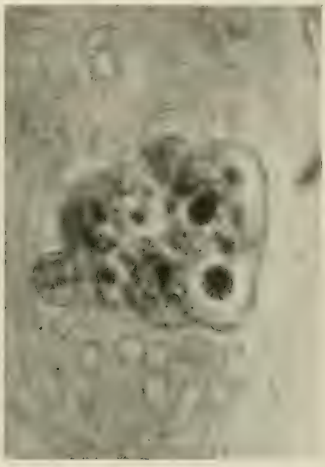


Fig. 28. Platanthera chlorantha. Ein Kern an die Wand der Zelle gewandert. Vacuolisierte Nucleolen. 450 : 1.

3—4 auf 6—7 μ, in den Verdauungszellen, die von Anfang an mit größeren Kernen ausgestattet sind, von 6—7 auf 12 bis 14 μ. Während dessen treten statt des einen mehrere Nucleoli auf, die in auffallend großen Kernvacuolen liegen und wie alle Nucleoli der Pflanze selbst vacuolisiert sind (Fig. 24 u. a.).[1]) Magnus hat daraus, daß er nie Teilungsformen fand, richtig geschlossen, daß sie durch Neubildung entstehen; Bilder, wie auf Fig. 22, lassen darüber keinen Zweifel mehr aufkommen.

Fig. 29. Platanthera chlorantha. Beinahe fraktionierter Kern bei sekundärer Infektion der Zelle. 450 : 1.

[1]) Bei Magnus fanden wir über die Vacuolisierung der Nucleolen der von ihm untersuchten Orchideenkerne keine Angaben. Doch kommen sie auch bei Neottia in

In der Nähe der verpilzten Zone erreichen diese Veränderungen ihren Höhepunkt.

Den Kern einer noch nicht infizierten Verdauungszelle gibt Fig. 23 einer ebensolchen Pilzwirtzelle Fig. 25 wieder; bis zu diesem Stadium ist der Entwicklungsgang der Kerne, abgesehen

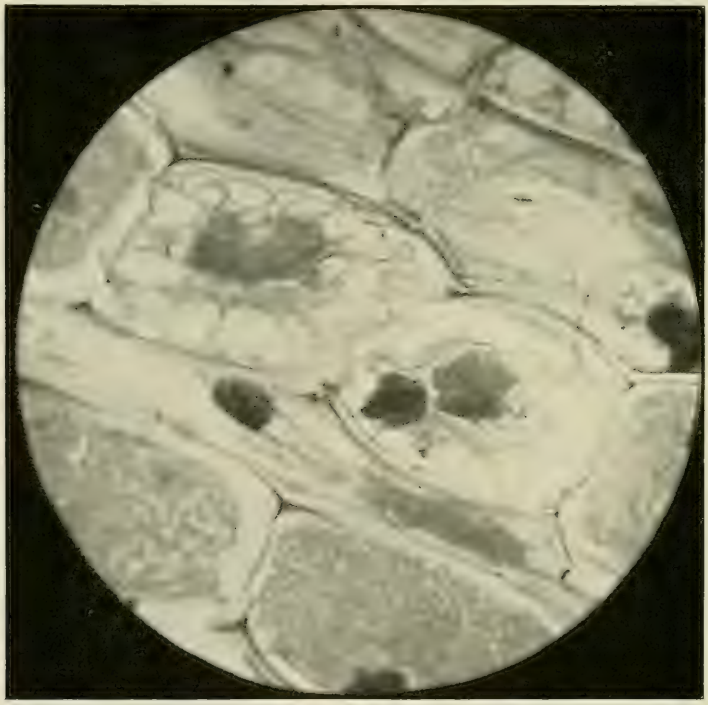


Fig. 30. Platanthera chlorantha. Zwei Verdauungszellen nach der Verdauung des Pilzes. Die zentralen Klumpen von Hyphenresten und Plasma strahlig umgeben, das zahlreiche Vacuolen einschließt. Tangentialschnitt. 160 : 1.

von der verschiedenen Größe, die übrigens stets der Zellengröße entspricht, der gleiche. Dieser Zustand dauert bei den Kernen der Pilzwirt- und Wurzelhaarzellen Zeit ihres Lebens an, nur vergrößern sie sich bedeutend bei der Infektion der Zelle (Fig. 26).

Die Kerne der Verdauungszellen ändern ihr Verhalten.

ausgeprägter Form vor. In Dangeards Arbeit über die Verpilzung der Ophrys aranifera ist ihrer Erwähnung getan.

Ist die infizierte Zelle ganz mit Mycel erfüllt, lassen sie sich zuerst anscheinend noch ganz passiv in absonderliche Form pressen (Fig. 27), treten aber alsbald aus ihrer Untätigkeit heraus. Nach der Seite der nächsten Zellwand entwindet sich der Kern unter amöboiden Bewegungen den ihn umschlin-

Fig. 31. Platanthera chlorantha. Radialschnitt durch den an das Leitbündel grenzenden Teil der Verdauungszellschicht. Oben: Stärkegefüllte Zellen der Endodermis. In der Mitte: Fast isodiametrische Verdauungszellen. Eiweißhyphen von sekundärer Infektion stammend, im ersten Stadium der Verdauung. Die starke Tingierbarkeit ist schon teilweise verschwunden; an einigen Stellen sind die hyalinen Querwände sichtbar. 160 : 1.

genden Hyphen (Fig. 28). Sein Chromatin sammelt sich auf der der Zellwand zugekehrten Seite, wobei die vorher scharf begrenzten Komplexe in kleinere weniger bestimmte zerfallen. Bei der Wanderung des Kerns kann es leicht zur Fragmentation kommen, wenn verschiedene Portionen nach verschiedener Richtung die Zellwand zu erreichen suchen (Fig. 29).

Hat der Kern die Wand erreicht und sich wieder ein wenig abgerundet, so entfaltet er jene fast geheimnisvoll wirkende Kraft, deren Resultat wir bald bemerken: die Konturen der Hyphen verlieren an Bestimmtheit (Fig. 20, mittlere Zelle im oberen Teil), diese kollabieren und gehen ohne weiteres in formlose Massen über, die an zahlreichen, von Protoplasmasträngen kaum unterscheidbaren Hyphenresten suspendiert

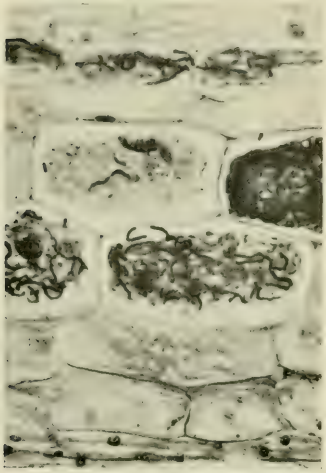


Fig. 32. Platanthera chlorantha. Übersichtsbild. Medianer Längsschnitt durch die Wurzel mit Epidermis (die äußeren Wände fallen nicht mehr auf das Bild), Pilzwirtschicht, Verdauungsschicht. Endodermis und Gefäßbündel. 100 : 1.

Fig. 33. Platanthera chlorantha. Dem Klumpen mit seinem hyalinen Rande anliegender Zellkern. Die feinen in den Klumpen eindringenden Fortsätze der Kernsubstanz sind nicht zu sehen. 450 : 1.

erscheinen (Fig. 30). Die von Magnus bei Neottia beschriebene lokale Klumpenbildung, bei der die Hyphen zuerst an der dem Kern anliegenden Stelle der Vernichtung anheimfallen, und dieser weiter wandernd das Mycel nach und nach verdauen kann, ließ sich hier nicht beobachten.

Dieser Modus des Verdauungsvorgangs ist der häufigere; wenn auch nicht ebenso häufig, so doch ebenso regelmäßig verläuft er etwas anders. Der Pilz findet Zeit, einen Teil seiner Inhaltsbestandteile in die Hyphen einer Zelle zu retten, die noch nicht unter dem Einflusse der verdauenden Säfte ge-

litten hat. Der ganz außerordentlich hohe Gehalt an Eiweißstoffen des Inhalts dieser „Eiweißhyphen" bedingt seine hohe Färbbarkeit mit Haematoxylin, durch die er sich von der stark verdickten und mit vielen hell erscheinenden Querwänden versehenen, nur mit Eosin schwach gefärbten Hyphenwand abhebt und dem doppelt gefärbten Schnitte ein so nuancenreiches

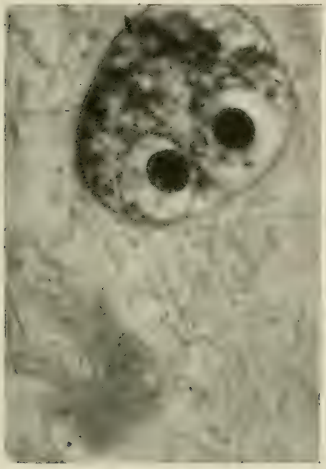


Fig. 34. Platanthera chlorantha. Nach der Verdauung in die Ruhelage zurückgekehrter Kern. 450 : 1.

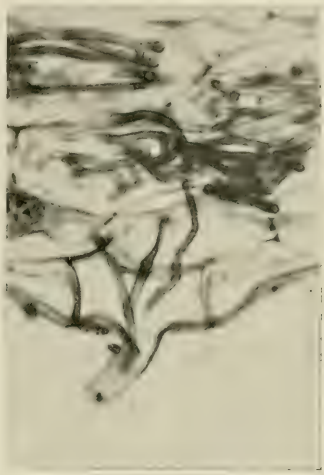


Fig. 35. Platanthera chlorantha. . Die Emigration des Wurzelpilzes durch eine Wurzelhaarzelle (das Haar ist oben abgeschnitten). Die Einschnürung der Hyphen an den Durchbruchstellen durch die Membran ist hier sehr deutlich. 160 : 1

Aussehen verleiht (Fig. 31 u. 32). Doch diese in anderem Falle zweckmäßige Reaktion des Pilzes ist hier vergebens. Der Kern der Pflanzenzelle tritt auch hier in Aktion, die Konturen der Hyphen verlieren an Schärfe, in weiter verdauten ist ihre schöne Farbe schon verschwunden, am Ende läßt sich der aus ihnen hervorgehende Klumpen nicht von einem gewöhnlichen unterscheiden. Mit den ausgesogenen Hyphenmassen verfährt die Pflanze weiter, wie folgt. Der Kern legt sich, sowie der Klumpen anscheinend ohne sein Zutun eine kompendiösere Form erhalten hat, an diesen an; nach außen scharf begrenzt, und von starken Chromatinansammlungen sich

dunkel färbend, entsendet er kaum sichtbare, weil kaum färbbare Fortsätze in den Klumpen hinein, diesen weiter zu zersetzen (Fig. 33). In fortgeschrittenen Stadien liegt er in einer muldenförmigen Vertiefung des Klumpens, der nun mehr oder weniger abgerundet an frischen, ca. 24 Stunden mit Eau de Javelle behandelten Schnitten mit Chlorzinkjod eine rötliche Färbung zeigt.

Nach der Vollendung des Klumpens rundet sich der Kern ab und zeigt bald wieder eine der vor der Infektion ähnliche Anordnung des Chromatins (Fig. 34). In der Zelle tritt häufig wieder Stärkebildung ein, eine neue Infektion kann stattfinden, das Mycel wiederum direkt oder unter Bildung von Eiweißhyphen von der Tätigkeit des Pflanzenplasma vernichtet werden, eine Schicht aus verdauter Masse sich um den alten Klumpen legen. Das Resultat dieses mehrmals wiederholten Vorgangs ist schließlich ein geschichteter Klumpen, wie sie bei vielen Orchideen vorkommen.[1])

Die Hyphen in den Pilzwirtzellen haben sich während dieser Vorgänge nach allen Richtungen hin ausgedehnt und alle erreichbaren Zellen der ihnen zugewiesenen Schicht in Besitz genommen. Ihr Durchmesser ist etwas größer geworden und hat 5,2—5,8 μ erreicht. Auf der Wanderung haben sie die unter den Wurzelhaaren gelegenen Zellen der subepidermalen Schicht angetroffen, und zeigen hier ein anormales Verhalten. Die Zelle wird, meist samt ihren Nachbarzellen, infiziert, der Pilz entsendet durch sie und die absorbierenden Wurzelhaare hindurch nach außen eine Anzahl von Hyphen (Fig. 35).

Diese ganz regelmäßig schon von Marcuse konstatierte Erscheinung stellte uns die Frage, ob diese Emissionshyphen als reproduktive oder absorbierende Organe des Pilzes

[1]) In seltenen Fällen vermag sich der Kern der Umarmung der Hyphen nicht ganz zu entziehen, er bleibt mit einem Teil in dem Knäuel stecken; so entstehen Klumpen, die durchschnitten ein Stück des Kerns enthalten. Auch bei Ophrys aranifera kommen nach Dangeard und Armand solche Bildungen vor.

zu deuten seien. Auf unseren Schnitten können wir die Wurzelhaarhyphen nicht verfolgen; wir müssen am frischen Material ganze Wurzelhaare aufzufinden suchen. Dies ist aber mit Schwierigkeiten verknüpft, weil jene bei dem Herausnehmen der Wurzel meist abreißen. Bei Kalkorchideen lassen sich bessere Resultate erhalten, weil man den Boden durch Säure lösen kann. Bei unserer Platanthera ist dies Mittel des humösen Substrates wegen zwecklos, wir müssen unter

Fig. 36. Platanthera chlorantha. Verlauf der Emissionshyphen in einem Wurzelhaar. Alle Stellen, die Verzweigungen der Hyphen enthalten, sind successive abgebildet. 435 : 1.

dem Präpariermikroskop einzelne Wurzelhaarenden aus dem die Wurzel umgebenden Humus herauspräparieren, was nach einiger Übung gelingt.

In der Mehrzahl der Haare verlaufen eine oder mehrere Hyphen unter sehr häufiger Verzweigung und Anastomosenbildung bis in die Spitze, wo sie teils endigen, teils durch Perforation der Wandung ins Freie gelangen (Fig. 36). Die Art dieser weiten, dickwandigen und relativ plasmaarmen Hyphen erinnert ganz an den Bau und das Verhalten der Langhyphen, die der Pilz in freier Kultur bildet. Die Seiten-

äste bleiben relativ kurz und sterben häufig an der Spitze ab. Lang- und Kurzhyphen anastomosieren häufig miteinander durch Kontakt- und Brückenanastomosen. Außerhalb des Wurzelhaares lassen sie sich leider nicht weit genug verfolgen.

In einem weiteren nicht geringen Bruchteil der Wurzelhaare zeigt sich ein anderes Bild. Stark lichtbrechende perlschnurartige Sporen des Pilzes geben ihnen ein schon bei sehr schwacher Vergrößerung auffallendes Gepräge (Fig. 37). Wir bemerken an das Wurzelhaar durchsetzenden etwas dünneren Hyphen kurze oder längere Seitenzweige von plasma-

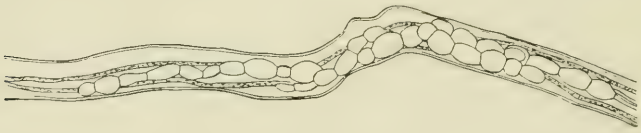


Fig. 37. Platanthera chlorantha. Sporenbildung im Wurzelhaar an plasmareichen Hyphen. 225 : 1.

reichem Inhalt, die an ihrem Ende in die bekannte Sporenbildung aufgehen. Ihre Homologie mit den reproduktiven Kurzhyphen, die der Pilz in freier Kultur bildet, ist evident. Diese Erscheinung, die von großer prinzipieller Bedeutung für die Kritik der Symbiose ist, findet sich zu allen Jahreszeiten regelmäßig an 20—30 Proz. der Wurzelhaare.

Das geringste Kontingent stellen die nicht infizierten Wurzelhaare; eine zahlenmäßige Feststellung wird später erfolgen.

Mit der Ausstrahlung der Emissions- und der reproduktiven Hyphen ist der Kreislauf des Pilzes in der Pflanze beendet: er mag in gedrängter Form wiederholt werden:

Der aus dem Boden kommende Pilz infiziert, in die Wurzelhaarspitze eindringend, durch Haare, Epidermis und subepidermale Schicht die beiden unter dieser liegenden dünnwandigen und kleingetüpfelten Zellschichten, um sich dort eines von den hyperchromatischen Kernen der Zelle nicht gestörten Daseins zu erfreuen. Auf der Operationsbasis der

Pilzwirtzellen fußend, dringt er in die inneren Rindenschichten der Wurzel ein, um überall die Stärke der Zellen in Lösung zu bringen. Er breitet sein Mycel, dichtere und wenig färbbare Hyphenknäuel bildend, bis zu den Zellen der Endodermis aus, ohne diese jedoch zu berühren. Hand in Hand mit charakteristischen Veränderungen in Form und Lage der

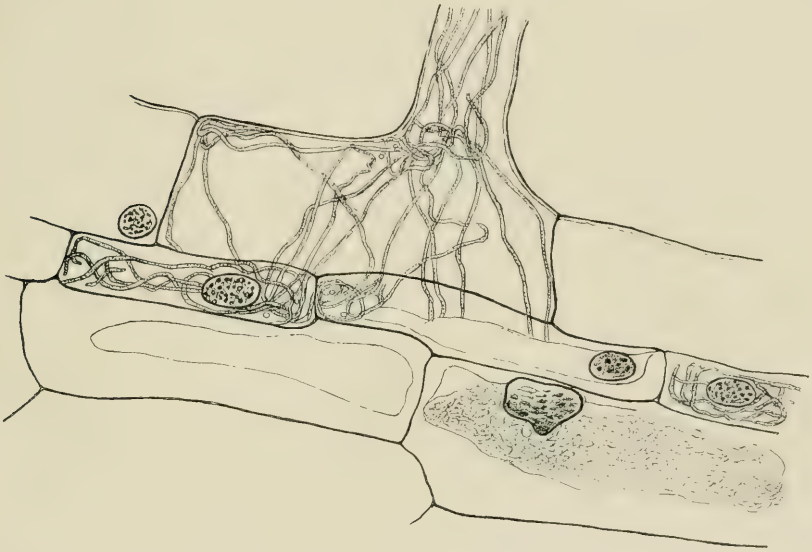


Fig. 38. Platanthera chlorantha. Die zweite seltenere Form der Mycorrhiza. Die Auswanderung des Pilzes. 270 : 1.

Zellkerne beginnt das Pflanzenplasma den Pilz in einigen Zellen zu verdauen und veranlaßt ihn, in anderen Eiweißhyphen zu erzeugen, die der Pflanze bald ebenfalls zum Opfer fallen. Die zusammengeballten Reste, den „Klumpen" schließt die Zelle durch Bildung einer Membran aus ihrem lebenden Teil aus. Wiederholte Infektion einer Zelle kann einen geschichteten Klumpen erzeugen. Die inzwischen üppig gedeihenden pilzwirtzellenerfüllenden Hyphen entsenden durch die Wurzelhaare nach außen weitlumige Emissionshyphen und plasmareiche Reproduktionshyphen, an welchen letzteren die Sporenbildung erfolgt.

Zuweilen trifft man in jungen Wurzelteilen der Platanthera chlorantha einen anderen Pilz, als die beiden in der Pflanze morphologisch gleichen, an. Feine $1^1/_2$—2 μ dicke Hyphen infizieren ein Wurzelhaar und bilden in das Wurzelgewebe eindringend Hyphenknäuel, die aber meist schon vor dem Eindringen des eigentlichen dickhyphigen Symbionten allerorts von der Pflanze vernichtet sind. Die dabei entstehenden Klumpen sind naturgemäß sehr klein. Der Kern unterliegt bei der Verdauung nur einer geringen Deformation. Hat die normale Infektion stattgefunden, so findet man die Hyphen dieses zarten Pilzes nur noch an einigen Stellen in den subepidermalen Schichten und den Wurzelhaaren, aus denen sie wieder auszuwandern scheinen (Fig. 38).

β) Bemerkungen über Abweichungen vom beschriebenen Typus bei anderen Ophrydeen.

Mollberg (84) unterscheidet bei den Ophrydeen Arten mit und Arten ohne verpilztes Rhizom. Zu den ersteren gehören Vertreter der Gattungen Ophrys, Orchis, Platanthera, Gymnadenia, Serapias, zu letzteren Orchis militaris, mascula und pallens. Er bemerkt aber dazu, daß er nie das Hinüberwachsen des Pilzes aus dem alten in das neue Rhizom hätte beobachten können. Wir sind somit gezwungen, ein verpilztes Rhizom durch Infektion von außen entstanden zu denken. Da das junge Rhizom bei Orchis mascula Wurzelhaare trägt, gestaltet sich die Einwanderung des Pilzes einfach. Bei den anderen beiden Arten wären die Verhältnisse noch zu untersuchen.

Bei den Keimpflanzen ist das Vorhandensein eines verpilzten Rhizoms anscheinend von großer Bedeutung. Fabre (56), bei Ophrys aranifera, Irmisch (53) bei Orchis militaris, N. Bernard (02) bei Platanthera chlorantha und ich bei Orchis militaris haben bei Keimpflanzen im Herbst und Frühjahr eine auf der Terminalknolle aufsitzende mit Wurzelhaaren ausgestattete Rhizomverdickung vorgefunden, Fabres „Tubercule basilaire“. Aus ihr entstehen die Seitenwurzeln. Da wir

sie bei Orchis mascula im August, der Zeit, in der die Pflanze immer der Wurzeln entbehrt, immer neu entstanden und verpilzt fanden, liegt es nahe, daß sie den des Pilzes in höherem Grade bedürfenden Keimpflanzen als Verpilzungsherd dient, dem die Aufgabe zufällt, den Pilz an die Nähe der Pflanze zu fesseln, damit die neugebildeten Wurzeln, — freilich von außen — infiziert werden können.

Von den erwachsenen Ophrydeen haben sich wohl die meisten von der Verpilzung des Rhizoms emanzipiert, z. B. Platanthera chlorantha. Alte Pflanzen tragen auch hier keine Wurzelhaare mehr am Rhizom. Die Erklärung liegt in dem Umstand, daß die alten Wurzeln bei ausgewachsener Pflanze im August erst beginnen abzusterben, wenn die neuen schon hervorgeschoben sind. Die Übertragung des Pilzes kann also hier von Wurzel auf Wurzel erfolgen.

Anders bei Orchis mascula. Ende Juli trifft man allein noch die neue noch wurzellose Terminalknolle mit ihrer Knospe an. Die alte ist mit ihren Wurzeln verfault. Den später auswachsenden Wurzeln der neuen Pflanze dient das hier verpilzte Rhizom als Pilzquelle.

Ob sich andere Arten ähnlich verhalten, wäre zu untersuchen.

Unterschiede in der Anordnung der Pilzwirt- und Verdauungszellen scheinen bei den Ophrydeen nicht vorzukommen. Eine gesonderte äußere Verdauungsschicht wie bei Neottia ist schon durch die anatomischen Verhältnisse ausgeschlossen. Magnus erwähnt, daß er gelegentlich in einer Wurzel von Platanthera bifolia den Pilz gänzlich resorbiert fand. Dies erklärt sich dadurch, daß die allein bei der Verdauung übrig bleibenden Hyphen der Pilzwirtzellen später, etwa zur Blütezeit der Pflanze, wenn die ganze Wurzel mit Klumpen angefüllt ist, von selbst degenerieren und vom Plasma der Pilzwirtzelle unter Mitwirkung des Kerns etwas zusammengeballt, vielleicht auch noch verdaut werden, wie kleine lockere und

unregelmäßig gestaltete Klumpen zu beweisen scheinen. Eine Verdauung lebenskräftiger Hyphen findet aber in den Pilzwirtzellen nie statt.

Auf die gröberen Einzelheiten untersuchten wir an anderen Ophrydeen Ophrys muscifera. O. aranifera und O. Bertolonii: Orchis maculata. O. mascula. O. sambucina. O. latifolia, O. variegata, O. militaris, O. ustulata und O. fusca; Gymnadenia conopea: Platanthera bifolia. P. viridis: Nigritella angustifolia und Herminium monorchis. und fanden überall den gleichen Verpilzungstypus. Unterschiede bestanden nur in der Form der Wurzelzellen. der Hyphendicke des Wurzelpilzes. und der Regelmäßigkeit der auf die ganze Wurzel ausgedehnten oder auf einige Wurzelteile beschränkten Infektion. Am engsten schließen sich in allem die Arten der Gattung Ophrys an Platanthera chlorantha an. Hier mag noch eine Beobachtung Platz finden. die geeignet ist, auf die morphologische Deutung der Eiweißhyphen Licht zu werfen. An einer Stelle einer Wurzel von Ophrys aranifera aus Riva fand sich ein großer zusammenhängender Zellkomplex mit Eiweißhyphen erfüllt. Die Hyphen waren wie üblich sehr häufig septiert. Die betreffende Stelle der Wurzel schien eine Druckverletzung erfahren zu haben. die die Zellen ihrer Verdauungsfähigkeit zum Teil beraubte. Einige der Eiweißhyphen hatten sich zu regulären Sporen umgebildet. wie wir sie bei dem frei kultivierten Pilz kennen (vgl. I. Teil. Fig. 19). Die Eiweißhyphen sind somit als unter der Einwirkung des Pflanzenplasmas metamorphosierte Sporen aufzufassen. was sich gut mit ihrer Funktion verträgt.

Sporen in den Wurzelhaaren scheinen bei allen Ophrydeen vorzukommen. Mollberg (84) hat bei Platanthera bifolia in den Haaren terminale oder intercalare Anschwellungen der Hyphen angetroffen. „die auch kettenförmig hinter einander auftraten". Durch Auspräparieren der abgerissenen Haarenden aus dem die Wurzeln umgebenden Boden gelang es uns, ihr Vorkommen außer für Platanthera chlorantha auch bei den hierauf untersuchten P. bifolia, Orchis fusca, O. pallens, O. maculata

und Ophrys muscifera nachzuweisen. So häufig, wie bei P. chlorantha traten sie freilich nicht auf. Bei Ophrys muscifera waren in einem Falle eine Reihe abgestorbener Epidermiszellen mit sklerotisch dichten Sporenhaufen des Muscifera-Pilzes erfüllt.

γ) Tatsachen, Experimente und Schlüsse bei der Erscheinung der Emigration des Wurzelpilzes.

Da die Frage nach der biologischen Bedeutung der Emigration des Wurzelpilzes von hoher Wichtigkeit ist, haben wir im folgenden versucht, die entsprechenden Angaben in der Literatur berücksichtigend, uns durch eigene Untersuchungen ein Bild davon zu machen. Marcuse hat mit Recht als eine der Hauptresultate seiner Arbeit den Nachweis der „mehr oder weniger reichlichen Kommunikation des endotrophen Pilzes" mit dem Substrat, das bewiesene Austreten des Pilzes aus der Wurzel bezeichnet.

Fußend auf seinen Feststellungen, betritt er die zuerst von Pfeffer aufgestellte Hypothese des Ersatzes der Wurzelhaare durch den Pilz.

Fragen wir zunächst einmal, wie viele Boden und Wurzel verbindende Hyphen eigentlich an einer Pflanze vorhanden sind. Marcuse gibt uns folgende Antwort: Bei einer 6 cm langen Wurzel von Orchis militaris fand er im Oktober zahlreiche Pilzverbindungen vor; und zwar auf dem 3,5 cm von der Basis beginnenden, 4,5 cm von ihr endigenden Stück auf fast jedem Schnitt „reichlich Kommunikationen des Pilzes mit dem im Substrat verlaufenden Mycel". Im Juli waren die Kommunikationshyphen nicht so zahlreich. Ähnliche Verhältnisse stellt er bei den anderen grünen einheimischen Orchideen fest (deren Namen er leider nicht angibt) und bemerkt dabei, daß die Häufigkeit der Pilzverbindungen selbst an einer Wurzel sehr wechselnd sei.

Eine Nachuntersuchung, die wir mit einer Anzahl von Ophrydeen zu verschiedenen Jahreszeiten anstellten, ergab das

ganz regelmäßige Vorkommen der Pilzkommunikationen mit dem Mycel im Boden an allen Stellen, wo die Pilze in den Wirtzellen der subepidermalen Schichten das Maximum ihrer Entwicklung erreicht haben. Vor diesem Zeitpunkt finden sich wenige und meistens Infektionshyphen, während desselben viele und nach demselben ebensoviele, aber häufig abgestorbene Kommunikationen vor. Diese Verhältnisse herrschen ganz allgemein bei den regelmäßig an allen Wurzeln verpilzten Formen, wie Ophrys apifera, O. aranifera (aus Jena und Riva), O. muscifera und O. Bertolonii: Platanthera chlorantha und P. bifolia; weiter ebenso regelmäßig bei den hie und da längere unverpilzte Wurzelstücke aufweisenden Orchis morio, O. militaris, O. fusca, O. variegata, O. mascula, O. latifolia, doch nur an den maximal verpilzten Stellen.

An Platanthera chlorantha unternahm ich den Versuch einer zahlenmäßigen Feststellung der Kommunikationshyphen. Eine im Herbst 72 mm lange Wurzel wurde von der Basis nach der Spitze in Teile von annähernd je 5 mm geteilt, und diese durch Einschnitte markiert; sodann jeder Teil mit der Hand in Serienschnitte zerlegt und die Zahl der Wurzelhaare und Pilzkommunikationen ohne Rücksicht auf die Qualität der Hyphen festgestellt. Pilzverbindungen durch die Epidermis lassen sich auf diesem Wege freilich nicht nachweisen, bei ihrer von mir im Gegensatz zu Marcuse konstatierten Seltenheit dürften sie überhaupt nicht in Betracht kommen. Die Wurzel war von beiden früher unterschiedenen Endophyten befallen, im basalen Teil von dem starkhyphigen, im terminalen von dem dünnhyphigen Pilz. Die Kommunikationshyphen schwankten daher in ihrem Durchmesser von 2—6 μ. Natürlich kann diesen Feststellungen nur eine relative Genauigkeit zukommen. Viele kurz abgerissene Hyphen werden übersehen sein, weil bei dem frischen Material manchmal ein Schnitt zu dick ausfiel. Da die Zählung der einzelnen Hyphen bei den oft gänzlich damit vollgepfropften Wurzelhaaren eine Unmöglichkeit war, unterschied ich zwischen Wurzelhaaren mit

mehr als 5, weniger als 5 und keinen durch sie verlaufenden Hyphen. Die folgende Tabelle gibt die Befunde an:

Basales Wurzelende	1—5	5—10	10—15	15—20	20—25	25—30	30—35	35—40	Terminales Wurzelende
Haare mit 5 u. mehr Hyphen	78	93	76	58	80	86	86	34	
Haare mit weniger als 5 Hyphen	96	164	116	88	44	75	85	82	
Haare ohne Hyphen	19	31	31	22	15	7	19	56	

Basales Wurzelende	40—45	45—50	50—55	55—60	60—65	65—70	70—72	Terminales Wurzelende
Haare mit 5 u. mehr Hyphen	8	0	0	0	0	0	0	
Haare mit weniger als 5 Hyphen	71	37	68	69	54	45	0	
Haare ohne Hyphen	85	119	24	13	9	2	0	

Rechnen wir die Zahlen zusammen, so erhalten wir 1693 verpilzte, 452 pilzfreie Haare. Nehmen wir als Durchschnittszahl für die erste Reihe 7 Hyphen pro Haar, für die zweite 2 Hyphen, so bekommen wir eine Gesamthyphenzahl von 6381 Einheiten, die sich auf 2145 Wurzelhaare verteilen. Daher kommen durchschnittlich 3 Hyphen auf ein Wurzelhaar.

Machen wir weiter die Voraussetzung, daß eine starke erwachsene Pflanze nur 5 Wurzeln dieser Art besitzt (sie hat meist deren 6 oder 7), so würde sie mit ca. 11000 Wurzelhaaren und ca. 32000 Pilzverbindungen mit dem Substrat in Berührung sein.

Diese Zahl dürfte freilich bei den erst in zweiter Linie genannten schwächer verpilzten und relativ wurzelhaararmen Orchideengenera eine bedeutend geringere sein, doch gilt auch hier der Satz, daß an den verpilzten Stellen auf jedem Schnitt Kommunikationen gefunden werden.

Die anatomischen Befunde hindern somit nicht, den Pilzkommunikationen die Funktion des Transportes gelöster Stoffe zuzuschreiben, die Möglichkeit ihrer Auffassung als reproduktiver Hyphen bleibt dabei bestehen. Es erscheint eben ganz unmöglich, die Hyphen in

jedem Falle bis zur Spitze des Wurzelhaares oder gar der Grenze ihres Verbreitungsgebietes im Boden zu verfolgen; einzelne Wurzelhaarenden aus der die Wurzel umgebenden Bodenschicht zu isolieren, gelingt freilich, wie oben erwähnt; in ihnen finden sich gerade hie und da die Sporen des Pilzes. Könnte man das Auswachsen und den Verlauf der Hyphen in durchsichtigem Medium beobachten, so fände man die Sporenbildung vielleicht erst in den Haaren der Wurzelteile, in denen der Pilz, gänzlich verdaut, für die Pflanze keine Bedeutung mehr hätte. Der Widerspruch in der reproduktiven und der assimilierenden Funktion der Pilzkommunikationen fände eine zwanglose Lösung.

An Pflanzen von Platanthera chlorantha, die im November dem Boden entnommen waren, ließ sich das Herauswachsen der Hyphen leicht demonstrieren, wenn wir sie in Hyazinthengläser in Wasser brachten und die Gläser im Warmhaus hielten. In einem Fall wurde destilliertes Wasser, im anderen mit dem einfachen Volum Wasser verdünnte mineralische Nährlösung (nach A. Meyer) mit 0,025 Proz. Ammoniumchlorid verwandt.

Nach 14 Tagen zeigten sich die Wurzeln der 3 Pflanzen im destillierten Wasser dicht umwachsen von flockigem Mycel, das an den Hauptästen 5—9 μ dick, an den feinen Verzweigungen seinen Durchmesser bis auf 3 μ verringert hatte und sehr häufig anastomosierte. (Die Wurzeln waren in diesem Falle allein von dem dickhyphigen Endophyten infiziert.) An einigen Stellen fanden sich regelmäßig septierte Stücke, deren Einzelglieder 10—11 μ Durchmesser und eine Länge von 30—40 μ besaßen und an Sporen erinnerten. Normale Sporen waren nicht ausgebildet. Die Identität des die Wurzel im Wasser umgebenden Mycels mit dem intracellularen ließ sich an Schnitten sicher feststellen. Im Inneren der Pflanze hatte eine ganz auffallende Vermehrung der Hyphenknäuel stattgefunden.

In der Nährlösung waren die Mycelien ebenfalls nach außen gewachsen, doch nur an wenigen Stellen und lange

nicht in dem Maße, wie im vorigen Falle. Sporen entstanden hier ebenfalls nicht.

Bei beiden Versuchen blieben die Pflanzen bis in den folgenden Sommer am Leben. Von 3 Pflanzen in destilliertem Wasser war eine im Winter ausgetrieben, die anderen blieben alle unentwickelt. Die neuen Knollen entstanden alle noch während des Winters, sie fielen bei den Pflanzen in destilliertem Wasser kleiner aus, als bei denen in Nährlösung. Die Verpilzungsverhältnisse blieben dieselben, wie in den ersten Wochen des Versuchs. Der Wurzelzuwachs wurde durch die neugebildeten Wurzelhaare von außen infiziert, was hier besonders schön zu sehen war, da die Hyphen den Haaren noch anhingen und häufig auf dem Wege zur Wurzel angetroffen wurden.

Das verschiedene Verhalten der Wurzelpilze in der Pflanze, das starke Hervorwachsen bei Kultur in destilliertem Wasser, das geringe in Nährlösung sprechen für die absorbierende Funktion der Hyphen, die im Falle des Mangels an Nährsalzen ein dichtes, feinverteiltes Netz um die Wurzel bilden. Selbstverständlich müßten diese Experimente unter größerer Variierung der Substrate, insbesondere in einer dem Bodenwasser des Standortes in Konzentration und Qualität der gelösten Salze ähnlichen Flüssigkeit vorgenommen werden, um ein einwandfreies Resultat zu zeitigen.[1])

Das häufige Anastomosieren der Hyphen in der Flüssigkeit, wo sie sich nur gelegentlich antreffen, deutet auf ein noch häufigeres Vorkommen von Fusionen auf festem Substrat, das sich die den Bodenpartikeln angeschmiegten Hyphen leichter begegnen läßt; anastomosieren sie doch an den Deckeln der Kulturschalen, wie früher bemerkt an allen Kreuzungspunkten. Wichtig scheint uns für die biologische Deutung der Ophrydeenmycorrhiza die aus Vorigem abgeleitete hohe

[1]) Versuche mit Neottia in destilliertem Wasser wurden zur selben Zeit angestellt, doch ohne Resultat. Das Wurzelnest faulte in den ersten Tagen. Ein langes stäbchenförmiges Bakterium fand sich in den stärkereichen Wurzeln fast in Reinkultur vor.

Wahrscheinlichkeit, daß die Pflanze in humösem nährsalzarmen Substrat umgeben ist von einem weit ausgedehnten, aus fusionierenden Hyphen bestehenden lockeren Netzwerk, das dem Pilz in Pilzwirtzellen und Verdauungszellen ständig Stoffe liefert, die der Pflanze bei der Verdauung des Pilzes anheimfallen. Man könnte sogar, vielleicht ohne eine allzu gewagte Annahme zu machen, behaupten, daß gerade dem in der Verdauungszellschicht in Bedrängnis geratenen Pilz in höherem Grade Stoffe von den Pilzwirtzellen und diesen wieder von dem äußeren Hyphennetz geliefert werden, die er im Kampfe gegen das Pflanzenplasma zu verwerten sucht.

c) *Neottiinae.*

Einige einheimische Vertreter der Neottieen scheinen viel weniger mycotroph, als die übrigen Orchideen. Hierher gehören Angehörige der Gattungen Cephalanthera, Epipactis und Listera; Mollberg schätzt die verpilzten Wurzeln auf den dritten Teil der Gesamtzahl. Die Form der Mycorrhiza unterscheidet sich von der der Ophrydeen durch das Fehlen einer dauernden Pilzwirtschicht; zwar bleiben die Hyphenknäuel der peripheren Rindenteile der Wurzel länger erhalten, wie bei den inneren Schichten, fallen aber schließlich doch der Verdauung durch das Plasma anheim. Die Emigrationshyphen entsprechen in ihrem Vorkommen denen der Ophrydeen. Bei Epipactis rubiginosa konnten wir die Sporen des Wurzelpilzes in den Wurzelhaaren auffinden.

Für eine Art der Gattung Epipactis, E. microphylla (und vielleicht auch E. sessiliflora) dürften sich bei einer Untersuchung andere Resultate ergeben, weil ihre Blattreduktion und die Dicke ihrer unterirdischen Teile (cf. Abb. Irmischs 53) auf eine stark saprophytische Ernährungsweise schließen lassen.

Das Genus Listera zeigt in seiner Art, Listera ovata, ganz besonders unregelmäßige Verpilzung, was besonders merk-

würdig ist, da ihr Same zu den am meisten reduzierten gehört, die wir von Orchideen kennen (vgl. Pfitzer, Orchidaceae. S. 74 in Nat. Pflanzenf. Engler-Prantl). Daß sie ganz ohne Pilze auskommen kann, beweist ihr Vorkommen auf drainiertem Boden, auf dem sich andere Orchideen nicht zu halten wissen.

Die Listera cordata des Gebirges besitzt eine weit regelmäßigere Mycorrhiza. Chodat und Lendner haben ihr eine Studie gewidmet. Die Form ist keine abweichende und soll deshalb hier nicht genauer beschrieben werden. Interessant ist die Angabe, daß die Wurzeln in Brunnenwasser von einem Überzug weißen Mycels bewachsen wurden, der mit den Hyphen in den Zellen in Verbindung stand. Dabei kam es zur Bildung von verschiedenen Fortpflanzungsorganen des Mycels, darunter auch von „chapelets en conidies", die vielleicht mit den Sporen eines den unseren ähnlichen Pilzes identisch sind. Die Dinge sind auch abgebildet, doch macht die schlechte Reproduktion der Abbildungen ein Wiedererkennen unmöglich. Jedenfalls besteht auch hier die Tatsache des Auswachsens der Emigrationshyphen zu einem die Wurzel umgebenden Netz.

Die einheimischen Arten der Gattung Spiranthes sind nicht genauer auf ihre Verpilzung untersucht, an in Töpfen gewachsenem Material (von Haage & Schmidt, Erfurt) von Spiranthes aestivalis konnten wir keine regelmäßige Pilzwirtzellschicht auffinden. Daß der Wurzelpilz zur Gruppe Orcheomyces gehört, beweisen Bernards früher erwähnte Experimente, der mit dem Pilz von Spiranthes Laelio-Cattleya- und Cypripediumsamen zur Keimung brachte. Bei anderen Arten des kosmopoliten Genus kennen wir Anatomie und Infektionsgeschichte. Bei Groom (94) finden wir die Beschreibung der anatomischen Verhältnisse bei einer indoaustralischen Art Sp. australis, bei Mac Dougal (99) die des nordamerikanischen Gyrostachis cernua (L.) Kuntze (Spiranthes cernua L.).

Die Spiranthesarten sind charakterisiert durch ihre häufig

rübenförmig verdickten fleischigen Wurzeln, die mit einer velamenähnlichen Exodermis und Durchlaßzellen ausgestattet sind (vgl. auch Irmisch 53) und an die Wurzeln der Epiphyten erinnern. Durch die Wurzelhaare und die mit hyperchromatischem Plasma (vgl. Mac Dougal und unsere Befunde an den Durchlaßzellen der Keimpflanzen von Laelio-Cattleya) erfüllten Durchlaßzellen verlaufen die Hyphen des Pilzes in das aus sehr zahlreichen Schichten bestehende Rindengewebe der Wurzel, wo Pilz- und Klumpenzellen in unregelmäßigen Komplexen der äußeren und mittleren Rinde verteilt sind. Die Frage nach der Qualität dieser Verbindungshyphen als Infektions- oder Emigrationshyphen ist hier und ebenso bei allen den folgenden terrestrischen Orchideenformen unbeantwortet. Die Autoren erwähnen ihrer in der ersten Bedeutung allein.

Goodyera repens, eine bei uns wie in Nordamerika vorkommende Art schließen wir hier an. Mac Dougal (99) hat dieser Pflanze eine eingehende anatomische Studie gewidmet. Ich hatte ebenfalls Gelegenheit, sie auf die wesentlichen Verpilzungsverhältnisse zu untersuchen. Die kurze, an dem im oberflächlichen Humus kriechenden Rhizom entspringende Wurzel führt eine sehr regelmäßige Mycorrhiza. Die Epidermis trägt eine außerordentlich hohe Zahl von Wurzelhaaren, die meist je von mehreren Pilzhyphen durchwachsen sind, an welchen ich häufig die Sporen eines zu Orcheomyces gehörigen Pilzes fand.[1]) Echte Pilzwirtzellen fehlen, die Dichte des Pilzwuchses und die Intensität der Verdauung nimmt einfach nach dem äußeren Rindengewebe der Wurzel hin zu. Gelegentlich findet sich der Pilz, wie ich an im Garten kultivierten Exemplaren der Pflanze sehen konnte, fast in allen Zellen verdaut. Wurzel und Haare sind mit dem umgebenden Humus fest verwachsen und tragen zur Befestigung der in der oberen lockeren Humusschicht liegenden Pflanze bei. Die aus

[1]) Ein Pilz, der sich, wie sich beim Abschluß dieser Arbeit zeigte, leicht kultivieren läßt.

den Haaren austretenden Hyphen bilden zusammen mit einem zuweilen auch in älteren Wurzelhaaren auftretenden Schnallenpilz ein dichtes Geflecht um die Wurzel, das die fehlenden Pilzwirtzellen entbehrlich erscheinen läßt. Eine andere, von Mac Dougal (99) und Holm (00) untersuchte nordamerikanische Neottiee, Pogonia ophioglossoides, die im Aufbau an Listera cordata erinnert, scheint ebenfalls keine Pilzwirtzellen zu besitzen. Pilzverbindungen erwähnt Mac Dougal in den Wurzelhaaren.

Bei der mit Pogonia nahe verwandten Gattung Coryanthes, einer in morphologischer und physiognomischer Beziehung außerordentlich interessanten Orchidee, sind die Verhältnisse der Mycorrhiza von Groom (94), dem wir eine genaue anatomische Studie verdanken, einigermaßen beschrieben. Ich selbst hatte Gelegenheit, mich an aus Java stammendem Alkoholmaterial von Coryanthes picta von der Eigenart der Ausgestaltung und ihrer Beziehung zur Mycorrhiza ein Bild zu machen. Das mit einem Laubblatt und zwei Schuppenblättern versehene aufrechte Achsengebilde der Pflanze trägt am oberen Teil die einsame Blüte, am unteren eine undeutlich zweilappige, an die der Ophrydeen erinnernde Wurzelknolle. Über dieser strahlen 2—3 wurzelähnliche Rhizome aus. Die Knolle ist mit zahlreichen Wurzelhaaren bekleidet; obgleich diese hier und da von Hyphen durchwachsen sind, finden sich doch keine Mycelien in der Knolle, eine den Verhältnissen der Ophrydeenknollen analoge Erscheinung. Die aufrechte Achse und ebenso die wurzelförmigen Ausläufer tragen an ihrer Oberfläche neben zahlreichen Spalten eigenartige Emergenzen, die in eine Anzahl (4—8) langer absorbierender Haare auslaufen. Sie bestehen aus einer axialen Reihe von inhaltsreichen Zellen (vgl. Groom, 94, pl. VI, Fig. 7) die von anderen epidermalen nach der Spitze an Zahl abnehmenden Zellreihen umrindet werden. Am Scheitel löst sich das ganze Gebilde in die langen Haare auf, die mit dem umgebenden

Humus in engem Zusammenhang sind. Die Infektion des Rhizoms erfolgt durch die Haare und die axile Zellreihe der Emergenz. Sie breitet sich, die Epidermis vermeidend, in den Rindenschichten aus und bildet Hyphenknäuel, die in allen Zellen mit Ausnahme der Basalzellen der Trichome dem Verdauungsprozeß verfallen können. Es resultieren den langen Rindenzellen entsprechende langgestreckte Klumpen. Pilzwirtzellen scheinen uns aus ähnlichen Gründen unnötig zu sein, wie bei Goodyera. Die Trichome der Rhizomoberfläche erklärt Groom für metamorphosierte Niederblätter; wir sind geneigt, sie mit den Wurzelhaarpapillen der Keimpflanzen epiphytischer Orchideen zu homologisieren, da sie aus diesen lediglich durch eine Reihe tangentialer Teilungswände entstanden gedacht werden können. Groom kam zu seiner Ansicht bei dem Studium des in dieselbe Untergruppe der Pogonieen gehörigen Epipogon nutans Rchb. f. (Galera nutans Blume).

Das farblose holosaprophytische Epipogon nutans besitzt ein knollenförmiges längliches Rhizom, das in stark verpilzten Humusmassen zu ruhen pflegt. Seine Schuppenblätter, die die ganze Oberfläche bedecken, tragen an der Außenseite zahlreiche einzellige absorbierende Haare, die mit dem umgebenden Humus in engem Kontakt stehen. Zuweilen sind sie und die parenchymatischen Mesophyllzellen des Schuppenblattes von Hyphen durchdrungen, doch scheint nach den Angaben Grooms eine Zellschicht mit verdauten Klumpen nicht vorzukommen. Es wäre in Anbetracht der nicht genügend untersuchten Pilzverhältnisse unnütz, uns auf diese in ihrem extremen Saprophytismus eine kompliziertere Form (eine ectotrophe?) der Mycorrhiza voraussetzende Pflanze weiter einzulassen, und Möglichkeiten zu diskutieren, wo Tatsachen fehlen.

Auch einen anderen von Groom anatomisch beschriebenen Holosaprophyten, der Galeola javanica Benth. & Hook f. (Cyrthosia javanica Blume) wollen wir hier nur kurz erwähnen, da hauptsächlich infolge des Mangels genügend umfangreicher

Abbildungen eine genauere Beschreibung der herrschenden Pilzverhältnisse unmöglich erscheint. Die an einem kurzen Rhizom inserierten Wurzeln der Pflanzen erinnern in Lage und Form an die von Neottia, nur sind sie weit stärker verdickt. Die Infektion erfolgt durch die stärker, als gewöhnlich ausgebildeten, kurzen, breiten wenig zahlreichen Wurzelhaare und die Durchlaßzellen der hier vorhandenen Exodermis. Das Mycel breitet sich in den inneren Schichten der Wurzelrinde aus und wird gelegentlich gänzlich in Klumpen verwandelt, wie ich an Alkoholmaterial aus Java konstatieren konnte.

Noch kürzer wollen wir mit der holosaprophytischen Aphyllorchis pallida Blume verfahren und nur bemerken, daß nach Groom die Mycelien durch die Wurzelhaare und die Durchlaßzellen in die mittleren Rindenschichten eindringen und sich dort ausbreiten.

Echte Pilzwirtzellen finden wir endlich einzig und allein in dieser Gruppe bei der von Janse (96) beschriebenen Myrmechis, einem grünen fakultativen Epiphyten. Das absorbierende System der Pflanze besteht aus einem mit Haarpapillen versehenen Rhizom, das durch die Haare oder durch die Epidermis direkt infiziert wird. Die äußeren 5 oder 6 Schichten bleiben pilzfrei, die 3 weiter nach innen gelegenen enthalten nur Knäuel, die 2 oder 3 nächsten bis 100 μ große, warzige Klumpen, die von Mycel umgeben sind. Hier kann also, wie bei den meisten Epiphyten, eine mehrmalige Infektion einer Zelle und mehrmalige Pilzverdauung stattfinden; denn die Entstehung eines so großen Klumpens ist nur so zu erklären.

d) *Phajinae.*

Aplectrum spicatum Britton (hiemale Nutt.), eine nordamerikanische Orchidee, über die zwei Arbeiten von Mac Dougal (98, 99a) vorliegen, scheint ihrer endotrophen Mycorrhiza wegen — die interessante Pflanze besitzt deren noch eine koralloide und eine ectotrophe — hierher zu gehören. In der Form der endotrophen Mycorrhiza finden wir nichts neues.

Die vom Substrat kommenden Hyphen durchdringen die Wurzelhaare, die Exodermis in den Durchlaßzellen und finden ihre größte Ausbreitung in den Schichten der inneren Rinde. Eine ausgeprägte Schicht von Pilzwirtzellen scheint nicht vorzukommen.[1]) Die Art der Infektion der neu gebildeten Pflanzenteile ist eine sehr interessante und wirft Licht auf die gleichzeitige Betätigung der Wurzelhaare als absorbierender Organe und als Eingangspforten für den Wurzelpilz. Der Bau der Pflanze ist kurz folgender: Ein fast kugelförmiges, aufrechtes und am unteren Ende bewurzeltes Rhizom trägt im Mai seinen Blütenstand; später entsendet es aus Achselknospen einen oder zwei Ausläufer, die an ihrem apikalen Ende im August ein Blatt über den Boden schieben, das den Winter überdauert. Unter der Insertion des Blattes bilden sich ein oder mehrere neue Rhizome, die am unteren Ende wieder Wurzeln bekommen. Das oder die Tochterrhizome treiben im nächsten Mai ihre reproduktiven Sprosse.

Die Wurzeln der Mutterpflanze enthalten in den Rindengeweben den Pilz, der durch die Wurzelhaare allenthalben ausstrahlt. Das für die Pflanze jetzt zu lösende Problem besteht darin, vermittelst des aus drei Internodien bestehenden hoch an der Rhizomknolle inserierten Ausläufers die Wurzeln der jungen Pflanzen zu infizieren. Der Ausläufer trägt daher an der Unterseite des basalen Teils eine Gruppe von Haaren, die abwärts nach den Wurzeln der elterlichen Pflanze gerichtet den Pilz von diesen empfangend in das Rindengewebe leiten. Dieser durchwächst den Ausläufer der Länge nach und gelangt so direkt in die jungen Wurzeln.

Wir finden somit hier Verhältnisse, die an die der mit Wurzelhaaren versehenen verpilzten Rhizomknollen der jungen, und einiger erwachsener Ophrydeen erinnern.

Über die Wurzelverpilzung der Gattung Phajus selbst berichtet Janse (96). Die Art der Einwanderung des Pilzes

[1]) An Material, das wir von Haage & Schmidt in Erfurt bezogen, fanden wir in den Rindenschichten der Wurzeln nur resorbierte Klumpen.

ist die übliche, sie erfolgt durch Wurzelhaare, Velamen und Durchlaßzellen. Die Mycelmassen lassen die erste Rindenschicht unter der Exodermis frei, die drei nächsten erfüllen sie mit dichten Knäueln, die Zellkerne unterliegen hier keinen Veränderungen. In den drei inneren Schichten sind die Zellen mit etwas weniger dichten Hyphenknäueln gefüllt, die einen Klumpen von länglicher Form einschließen.

In den infizierten Wurzelteilen führen alle Zellen mit Ausnahme der Rhaphidenzellen Mycel.

Die kurze und klare Beschreibung Janses ist durch eine genaue und umfangreiche Zeichnung unterstützt, die Hyphen der drei äußeren Schichten sind darin dunkler gehalten. Es besteht somit kein Zweifel, daß wir bei Phajus eine vollkommene Differenzierung der Symbiose in Pilzwirt- und Verdauungszellen vorfinden.

Cypripedilinae.

Auf die Mycorrhiza der Cypripedien sei noch mit wenigen Worten eingegangen. Sie bietet wenig Abweichendes. Unser Cypripedium calceolus ist häufig fast pilzfrei; unregelmäßig verpilzt sind auch die von Mac Dougal beschriebenen Nordamerikaner C. parviflorum (Salisb.), C. hirsutum (pubescens Willd.) und C. acaule (Alt.). Die erwachsenen Pflanzen haben, wie später zu erwähnende Befunde Stahls zeigen, Charaktere, die auf eine starke Transpiration hinweisen, und sind fast autotroph. Die gänzliche Unfähigkeit der Samen, selbständig zu keimen, die Abhängigkeit der jungen Keimpflanzen läßt uns das Vorkommen der Mycorrhiza verstehen, insofern die Pflanze den die Keimung ermöglichenden Pilz in der Nähe haben muß.

Die tropischen Formen der Gattung scheinen weit mehr verpilzt, worüber wir uns an einigen Wurzelschnitten von Gewächshauspflanzen orientieren konnten.

e) Die Epiphyten.

Die epiphytischen Orchideen der Tropen sind leider in ihrer Mycorrhiza erst wenig bekannt. Es sind wohl viele Arten, meist Treibhausmaterial, oberflächlich untersucht worden; genauere Angaben über die Verpilzung am Standort liegen nur über wenige Formen vor.

Die Differenzierung von Pilz und Pflanze scheint, verglichen mit der der terrestrischen Orchideen, wenig weit fortgeschritten.

Soweit die Pilze durch die Kultur bekannt geworden sind, und das sind sie für Arten der Gattungen Cattleya, Laelia, Chysis, Acropera, Stanhopea, Phalaenopsis, Odontoglossum, Oncidium und Vanda, gehören sie zu derselben Gruppe. Bernard glaubte im Anfang, es mit einem Familienparasiten zu tun zu haben, bis er die morphologische und physiologische Verschiedenheit der Pilze von Cattleya, Odontoglossum und Phalaenopsis feststellte. Wir können diese Ansicht aber doch in etwas erweiterter Form wieder aufnehmen, wenn wir statt einer Art des Familienparasiten eine Artengruppe von solchen annehmen. Die vorliegenden histologischen Befunde an den Wurzeln epiphytischer Orchideen hindern uns daran nicht. Gestützt wird diese Annahme durch die Tatsache des möglichen Austausches von Pilzen terrestrischer und epiphytischer auch lokal getrennter Orchideen, wie ihn Bernard zwischen Spiranthes und Laelio-Cattleya bei der Keimungssynthese der letzteren, ich z. B. zwischen Habenaria psychodes, Serapias lingua, Ophrysarten und Laelio-Cattleya, zwischen Platantherapilzen und verschiedenen Odontoglossen vollzogen, und die für ihre Ausdehnung auf die Mehrzahl der Orchideen überhaupt zu sprechen scheinen.

Die Ursachen für die wenig differenzierte Verpilzungsform der Epiphyten dürften in den günstigeren Bedingungen zu suchen sein, die der Wurzelpilz in der Umgebung der Epiphytenwurzel findet. Das hohe Sauerstoffbedürfnis des Pilzes

wird hier eher seine Befriedigung finden können, die an einen geringeren Gehalt der Umgebung gewöhnten Mikroorganismen werden vielleicht weniger als Konkurrenten auftreten. Aus resultierenden Gründen spart die erwachsene Pflanze die Anlage einer Pilzwirtschicht. Wenn die Möglichkeit ständiger Neuinfektion durch einen reichlichen Wuchs des Pilzes in der Umgebung der Wurzel garantiert ist, erscheinen sie überflüssig. Bei den Keimlingen tritt sie, wie wir bei Epidendron sahen, zuweilen auf. Eine weitere Ursache für die relativ niedrige Stufe der Mycorrhiza liegt in der unregelmäßigen Verteilung des Pilzes auf die Wurzeln der Pflanze. Verpilzte Stellen finden sich immer nur da, wo die Wurzel dem Substrat anliegt, gleichwohl ob sie Wurzelhaare ausgebildet hat oder nicht. Wo sie nicht anliegt, ist sie durch die Ausbildung von Chloroplasten zur Assimilationsarbeit der Pflanze herangezogen und wird nie infiziert. Besonders schön zeigen diese Erscheinung die mit Appressionswachstum ausgezeichneten Orchideenwurzeln, wie die Seitenwurzeln der Vandeen, der Vanille und anderer Formen. Bei ihnen findet man fast stets die dem Substrat anliegende mit dicht stehenden Wurzelhaaren ausgestattete Seite chlorophyllfrei und verpilzt, die andere grün und pilzfrei. Bei Taeniophyllum, das ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, bleiben sogar die Seitenflügel der platten mit der gesamten Assimilation der Pflanze betrauten Wurzel pilzfrei und die Infektion erfolgt nur in dem schmalen mittleren Streifen der planen Wurzelunterseite, der mit seinen Wurzelhaaren die Befestigung der Pflanze übernommen hat. Die Ausbildung eines richtigen differenzierten Pilzlaboratoriums, als welches wir die in ihrer Form stark modifizierten Wurzeln der Neottia und der Ophrydeen betrachten können, und die bei diesen möglich war, weil an die Wurzeln nur geringe Ansprüche auf mechanische Leistungsfähigkeit gestellt wurden, erscheint bei Häufung aktiver und passiver von der Epiphytenwurzel zu leistender Funktionen bei dieser ausgeschlossen, wenigstens bei der Verpilzung durch den Familienparasiten.

Die regelmäßige, aber in ihrer Ausdehnung sehr variierende Infektion der Epiphyten hat schon Mollberg (86) bei Arten der Gattungen Dendrobium, Oncidium, Maxillaria, Vanda, Zygopetalum, Cattleya, Rodriguezia, Eria, Stanhopea, Epidendron, Brassia, Cymbidium und Anguloa festgestellt.

Die Art der Infektion ist durch den anatomischen Bau der Epiphytenwurzel bei allen Formen in derselben Weise bestimmt. Der Pilz wandert durch die Wurzelhaare oder, wenn diese nicht vorhanden, durch die Epidermis direkt in die Schichten des Velamen, wo er sich nach allen Richtungen ausbreitet. Von hier aus gelangt er, augenscheinlich chemotropisch angelockt, zu den mit körnerreichem hyperchromatischem Plasma angefüllten Durchlaßzellen der Exodermis, die er durchdringt. Die unter ihnen liegenden Zellen passiert er ohne Aufenthalt und breitet sich erst in den inneren Rindenschichten in der Nähe der meist mit großen Stärkemengen angefüllten Endodermis aus. Die Phasen der Verdauung sind dieselben, wie bei den terrestrischen Orchideen, nur scheint eine wiederholte Infektion mit nachfolgender Verdauung häufiger vorzukommen. Emigrationshyphen sind bis jetzt bei den Keimpflanzen beobachtet, wo sie die Wurzelhaare durchdringen und gelegentlich darin Sporen bilden (vgl. Bernard 04), außerdem nur bei Vanilla. Daß sie auch sonst allenthalben vorkommen, ist sehr wahrscheinlich. Eine echte Pilzwirtschicht ist nur in einem Falle bekannt geworden, bei Lecanorchis javanica, der aber ausscheidet, weil die von allen anderen gänzlich abweichende Form der Mycorrhiza durch einen zu einer anderen Gruppe gehörigen Pilz verursacht erscheint.

In obiger allgemeiner Schilderung sind außer eigenen Untersuchungen die in der Literatur zerstreuten Angaben von Mollberg, Wahrlich, Janse und Bernard verwertet. Die Infektionsgeschichte entspricht in den Einzelheiten den von Janse (96) bei Dendrobium vorgefundenen Verhältnissen. Die spärlichen anatomischen Beiträge der Autoren im einzelnen zu

referieren, erscheint, von unserem biologischen Standpunkt aus gesehen zwecklos und mag unterbleiben. Auf eine neuere Arbeit müssen wir jedoch noch genauer eingehen, die, wenn ihre Resultate Bestätigung finden, von schwerwiegender Bedeutung wäre.

Cordemoy (04) hat, ausgehend von der praktischen Erfahrung, daß die Vanille nur auf bestimmten Bäumen gut gedeiht, diese Kulturpflanze samt ihrem Substrat einer anatomischen Untersuchung unterzogen. Er stellt zunächst fest: Die Züchter der Vanille wissen schon lange, daß die Pflanze nur auf bestimmten Bäumen gut gedeiht, so auf Casuarina equisetifolia Forst., besser noch auf Jatropha curcas L. und Pandanus utilis. Weiter spricht er die Vermutung aus: „que les racines de la vanille trouvent dans la tige vivante, a laquelle elles adhèrent, plus qu'un simple support, et qu'entre celui-ci et l'orchidée il existe des rapports beaucoup plus étroits, qu'il importait de déterminer." Die anatomischen Verhältnisse, die er findet, sind kurz folgende:

Die dem Substrat anliegende Seite der Vanillewurzel ist mit einem piliferen Gewebe ausgestattet; unter diesem liegt die verkorkte Exodermis mit ihren körniges Plasma und dicken Zellkern führenden Durchlaßzellen. Dann folgt die Wurzelrinde mit ihrem Pilzinhalt. Das Substrat der Wurzel, die Rinde der Jatropha trägt nach außen ca. 15 Schichten Kork, darunter einige Schichten kleiner isodiametrischer Zellen mit Oxalatdrusen, die sich aus Phelloderm und primärer Rinde rekrutieren.

Zwischen Wurzel und Rinde trifft man ein braunes, aus stark kutinisierten, mit sukzessiven Einschnürungen versehenen Hyphen bestehendes Mycel. Dieses steht durch feine Verzweigungen mit den durch die Wurzelhaare und die Durchlaßzellen der Wurzel verlaufenden Hyphen in Verbindung und dadurch auch mit dem Verpilzungssystem der inneren Wurzelrinde. Auf der anderen Seite, dem Substrat, also der Rinde des Baumes dringen die Hyphen in radialer Richtung durch die Korkzellen und in die Rindenzellen ein, die sie, nach innen immer feiner

werdend, mit Hyphenknäueln erfüllen, ohne die Oxalatzellen dabei zu verschonen.

Cordemoy schließt aus diesen Befunden, daß der Art der morphologischen Kommunikation der beiden Pilzkörper in Wurzel- und Stammrinde eine ebensolche physiologische entsprechen müsse, und daß der Pflanze bei dieser echten symbiotischen Vereinigung nützliche Nährstoffe aus der Rinde geliefert werden.

Ohne uns auf das Verhältnis des Pilzes zur Unterlage der Wurzel näher einzulassen, möchten wir in allem nur eine Bestätigung unseres früher erwähnten Satzes erblicken, der besagte, daß die Wurzel der Orchidee sich innerhalb eines Netzes kommunizierender Hyphen befände, dessen einer Teil in der Wurzel versenkt ist, dessen anderer in ihrer Umgebung selbständig, vielleicht sogar in gewisser Beziehung von der Pflanze unterstützt[1]), vegetiert.

Die Schilderung der normalen Orchideenmycorrhiza, der mit einander ähnlichen Pilzen unter dem Zeichen der Klumpenbildung symbiotisch verbundenen Orchideenwurzel, ist hiermit beendigt. Es erübrigt die Betrachtung weniger abweichender Typen, deren Entwicklungsgang sich in Gemeinschaft mit anderen Pilzsymbionten vollzog.

2. Die koralloide Mycorrhiza.

Erschien uns Neottia nidus avis als das Anfangsglied einer Reihe ähnlicher Verpilzungstypen, können wir auch Corallorhiza zum Ausgangspunkt in der Betrachtung einer anderen Reihe wählen.

Unsere Corallorhiza innata bietet als erwachsene Pflanze noch kein extremes Bild obligaten Holosaprophytismus, sie enthält in der Achse des Blütenschaftes und in den Fruchtkapseln noch Chlorophyll, wenn dieser Schaft auch der Laub-

[1]) Der Pilz vermag z. B. mit der Pflanze auf milchsäurehaltigem Substrat zu gedeihen, was ihm ohne sie unmöglich ist.

blätter ermangelt. In den ersten Lebensjahren ist sie freilich gänzlich saprophytisch. Aus der etwas gekrümmten, rübenförmigen mit dem Pilz bereits infizierten Keimachse (cf. Irmisch 53) entwickeln sich eine Anzahl Schuppenblätter, die in ihren Achseln je einen dicken, am Vegetationspunkt durch seine stumpfe wenigblättrige Knospe abgebissen erscheinenden Seitenzweig entstehen lassen, der wieder dem Modus der Hauptsache im Wachstum folgt. Hat das daraus resultierende koralloide System vermutlich nach einigen Jahren eine gewisse Ausdehnung erlangt, so wächst die primäre, oder auch eine der sekundären Achsen zum Blütenstand aus, der sich dann im Sommer über den Erdboden erhebt.

Über die Mycorrhiza der Corallorhiza innata liegen ältere Untersuchungen von Reinke (73) und Jennings und Hanna (99) vor, die wir aber nicht verwenden wollen. Mac Dougal (99a) hat die Verpilzung der Corallorhiza arizonica beschrieben, einer amerikanischen Form, die als obligater Saprophyt zum Ausgangspunkt für uns geeigneter ist.

Die morphologischen Verhältnisse der erwachsenen Corallorhiza arizonica sind dieselben wie bei unserer einheimischen Art, nur sind die Ausmaße der Pflanze etwas größer. Der in Phloem und Xylem differenzierte Zentralzylinder der unterirdischen Achse ist umgeben von einem aus eiförmigen oder kugeligen, reich mit Stärke angefüllten Zellen bestehenden, 10—15 Schichten dicken Gewebe der inneren Rinde. An diese schließen sich 15—20 Schichten in radialer Richtung gestreckter Zellen der mittleren, auf die die äußere Rinde mit 3—5 flachen Zellschichten und der Epidermis folgt. Diese letztere besteht aus nach außen leicht gebräunten und schwach verdickten Zellen und trägt zahlreiche Spalten mit Stärke führenden Schließzellen. Das koralloide System ist damit in der Transpiration vom Sproß unabhängig. Den vergänglichen Schuppenblättern kommt keine Funktion zu. Zwischen ihnen an der Achse finden sich zahlreiche Haare tragende Papillen, die das Absorptionssystem der Pflanze darstellen.

Der Pilz erhält schon zu sehr früher Zeit Zutritt in die neu gebildeten Achsenteile (wie wir aus der Analogie mit anderen Orchideen schließen müssen. stammt er aus der Keimachse und damit aus dem einmal infizierten Samen). Er folgt dem Scheitel des Sprosses in kurzer aber gemessener Entfernung nach. Das Mycel in den Zellen der äußeren Rinde formiert einen Hohlzylinder, der selbst in den alten Rhizomteilen aktiv bleibt und nicht von der Pflanze verdaut wird. Diese Schicht. „the permanent mycelium" unsere Pilzwirtschicht bildet den regenerationsfähigen Teil des Pilzes. Sie entsendet auf der einen Seite Abzweigungen in die Zellen der mittleren Rinde. Die Zellen füllen sich mit dichten Knäueln feiner Hyphen, die sofort nach ihrer Entstehung noch nahe dem Scheitel zu gelblichen Klumpen geformt werden. Nach der anderen Seite dringen Zweige des „permanent mycelium" anscheinend chemotropisch von zugeleiteten Stoffen angelockt durch Papillen und Trichome nach außen in den Boden. Eine Infektion des Rhizoms durch von außen die Haare passierende Hyphen findet entgegen den Angaben von Jennings und Hanna nicht statt.

Mac Dougal deutet diese einfachen und klaren Verhältnisse in einer Weise, die, unserer Annahme von der Funktion der Emigrationshyphen entsprechend, ihnen eine äußerst wichtige Funktion zuerteilt.

Der Pilz bezieht seine Nahrung aus dem Humus. Er verwendet aber auch Kohlenhydrate aus dem Rindengewebe der Pflanze. Vermittelst des gewonnenen Materials füllt er die Rindenzellen mit Hyphenknäueln an. deren innere Partie die Pflanze verdaut. Die gewonnene Substanz führt die Pflanze nach zwei Seiten ab. nach dem Vorderende des Rhizoms und nach den koralloiden hinteren Teilen. An beiden Stellen werden die Kohlenhydrate in Stärke verwandelt und diese dient auf der einen Seite zum Aufbau der reproduktiven. auf der anderen der vegetativen Sprosse; in dem mittleren Rindengewebe der letzteren bleibt genügend Stärke zurück.

um dem weiter fortwachsenden Pilz eine vorteilhafte Nahrung zu sein. Der Autor nimmt dabei natürlich an, daß die Menge der aus dem Boden genommenen Assimilate des Pilzes eine weit beträchtlichere sei, als die in dem Rindengewebe lagernde Reservesubstanz der Pflanze, setzt also die Möglichkeit des Transportes der Stoffe durch die in den Trichomen verlaufenden Hyphen voraus.

Die schon öfters gestellte Frage nach der Qualität dieser Annahme tritt somit hier wieder auf. Marcuse (02) hat an Corallorhiza innata die Ausstrahlung des Pilzes durch die Papillen einer besonderen Aufmerksamkeit gewidmet und ebenfalls als eine mit einer absoluten Regelmäßigkeit auftretende Erscheinung charakterisiert. Die Richtung der Emigrationshyphen erkannte er sicher an den nach vorne gerichteten Wänden in den Schnallenfusionen der Hyphen. Über eine Möglichkeit der Auffassung der Emigrationshyphen als reproduktiver Hyphen des Pilzes ist nichts bestimmtes zu eruieren. Unseres Erachtens wäre aber die Auffindung von Fortpflanzungsorganen des Pilzes an den Emigrationshyphen noch kein Gegenbeweis für die Annahme ihrer absorbierenden Qualität, da eine zeitliche Trennung beider Funktionen bestehen hönnte.

Die histologischen und cytologischen Vorgänge in Pilzwirt- und Verdauungszellen der Corallorhiza sind noch nicht genauer untersucht. Serienschnitte, die wir von Rhizomen der Corallorhiza innata anfertigten, zeigten außer einigen Verschiedenheiten in dem Bau der Zellen gegen die von Neottia und die Ophrydeen etwas abweichende Kernveränderungen, die eine eingehende Untersuchung verdienten.

Den Wurzelpilz von Corallorhiza innata konnten wir auf die bei Orchideen neottioider Verpilzung angewandte Methode ebensowenig isolieren, wie den Endophyten der Neottia selbst. Beide erscheinen zu weit an das Leben der Pflanze angepaßt, als daß sie auf sterilisiertem Substrat wüchsen. Seine Zugehörigkeit zu den Basidiomyceten scheint aus dem Auftreten

der Schnallenanastomosen geschlossen werden zu dürfen. Jenning und Hanna (99) halten ihn für identisch mit Clitocybe infudibuliformis Sch. und „Hysterangium stoloniferum of Tulasne", Pilzen, deren Fruchtkörper zuweilen über dem unterirdischen Rhizom der Corallorhiza erscheinen. Wir müssen uns des Urteils enthalten, inwieweit diese Annahme auf Richtigkeit Anspruch machen darf.

Bei dem der Corallorhiza in Entwicklung und Aufbau sehr ähnlichen (cf. Irmisch 53), hauptsächlich durch seine langen Stolonen unterschiedenen Epipogon Gmelini hat Marcuse (02) das reichliche Vorkommen schnallenführender Emigrationshyphen festgestellt. Wie ich an orientierenden Schnitten sah, entspricht, abgesehen von Unterschieden in der Zahl der Rindenschichten des Rhizoms, die Form der Verpilzung genau der von Mac Dougal bei Corallorhiza arizonica beschriebenen, während bei unserer C. innata die Verteilung des „permanent myceliums", der Pilzwirtzellen keine regelmäßige ist. und auch in älteren Teilen des Rhizoms alle pilzinfizierten Zellen verdaut werden können.

Noch bei zwei anderen Orchideengattungen ist eine koralloide Mycorrhiza bekannt geworden, bei Calypso bulbosa (L.) Oakes und Aplectrum spicatum Britton. Beide scheinen, soweit sich aus den wenig genauen Beschreibungen schließen läßt. nicht zu der Endophytengruppe Corallorhiza-Epipogon zu gehören. Die morphologische Entwicklung der Pflanzen ist im Prinzip dieselbe (vgl. Mac Dougal [98 99a], zu Calypso auch die ältere Arbeit von Lundström [89]). An dem wurzeltragenden mit Blatt und Blütenstand gekrönten aufrechten Rhizome entstehen bei Aplectrum lange, bei Calypso kurze Ausläufer, deren Endknospe die Pflanze im folgenden Jahre reproduziert. Das der jungen Pflanze anhaftende vorjährige Rhizom läßt nun zuweilen und nicht an allen Pflanzen die koralloiden Seitenzweige erscheinen.

Den die drei oder vier äußeren Schichten des koralloiden Calypsorhizoms durchsetzenden Pilz schildert Mac Dougal

als unseptiert und statt der Haare die dünne Epidermis zum Ausstrahlen durchbrechend. Er würde sich damit den Pilzen der Lycopodiaceen nähern.

In den entsprechenden Bildungen des Aplectrum findet sich ein permanentes Mycelium nur als ectotrophe Mycorrhiza. die Hyphen dringen aber durch die Haare und die äußeren Rindenschichten in die inneren, wo sie zahlreiche Anschwellungen (Cysten?) aufweisen.

Von höherem Interesse, als diese ungenügenden histologischen Angaben, ist die Tatsache, daß es Mac Dougal gelang. die koralloiden Bildungen am Rhizom experimentell hervorzurufen. Er trennte alte Rhizomteile von der jungen Pflanze und beobachtete an ihnen das Auswachsen der schlafenden Augen zu koralloiden Zweigen, veranlaßte also die ihres Assimilationsorganes beraubte Pflanze, ihre hemisaprophytische Lebensweise mit einer holosaprophytischen zu vertauschen. Dieses Experiment beweist die Leistungsfähigkeit der koralloiden Verpilzungsform auf das deutlichste und legt die Vermutung nahe, daß sie bei jungen Pflanzen obligat auftreten dürfte.

3. Sporangiolenpilze.

Ein besonderes inniges Verhältnis zwischen Pilz und Orchidee schildert uns Janse (96) in der Mycorrhiza der Lecanorchis javanica. Die Wurzeln dieser holosaprophytischen Pflanze sind mit einer mehr oder weniger dicken Schicht von zu Bändern vereinigten Pilzhyphen bekleidet, gewissermaßen einer ectotrophen Mycorrhiza, die sich von der richtigen nur dadurch unterscheidet, daß sie nicht zwischen die Epidermiszellen hineinwächst. Hier und da dringen einzelne Hyphen in die Epidermiszellen ein, und von da durch die Durchlaßzellen, die durch Ausbildung lokaler in ihrer Funktion unbekannter Zelluloseverdickungen auf die Infektion reagieren. — ein Velamen ist nicht vorhanden — in die zweite Rindenschicht.

Diese besteht aus in axialer Richtung gestreckten Zellen und enthält das permanente Mycel, die Pilzwirtzellen der Mycorrhiza. Die dritte Rindenschicht setzt sich zusammen aus ganz außerordentlich großen Zellen, die da, wo die an sie grenzende Pilzwirtschicht zufällig keine Pilzhyphen enthält, nur wenig Protoplasma, große Vacuolen und einen normalen Zellkern führen. Im Gegenteil hierzu sind die an infizierende Pilzwirtzellen stoßenden Riesenzellen mit einer fein granulierten und wenig durchscheinenden Masse gefüllt. Ihre Kerne zeigen alle Erscheinungen der Hypertrophie: sie sind stark vergrößert, unregelmäßig bis zur Fragmentation gestaltet und besitzen mehrere Nucleolen, die nach Janses Zeichnungen vacuolisiert erscheinen. Die genaue Untersuchung ergibt das Eindringen kurzer Hyphenzweige von der Pilzwirtschicht in die großen Zellen, die sich, längere Zeit in Eau de Javelle liegend, an ihrem Ende in einen mit fein granuliertem Inhalt versehenen Sack erweitern. In Schnitten, die nicht mit dem Reagens behandelt waren, fanden sich inmitten der granulierten, stark lichtbrechenden Masse spherische oder eckige, sich mit Jod bräunende Körper. Diese eigenartigen Verhältnisse der Schicht, die wir für die Verdauungszellschicht der Mycorrhiza halten müssen, erinnert ganz auffallend an die, welche Gallaud (05) neuerdings für viele Nichtorchideen beschrieben hat. Obgleich der genannte Forscher die Sporangiolen — denn so müssen wir die sackartigen Erweiterungen nach der Analogie ihrer Enstehung mit der bei anderen Pflanzen nennen — entsprechend seiner skeptischen Auffassung von der Symbiose lediglich für die zum Schaden der Pflanze entwickelten und deshalb von ihr vernichteten Haustorien eines parasitischen Pilzes hält, möchten wir in ihnen die Organe des Pilzes sehen, die wenn auch gezwungen den Austausch organischer Nahrung seitens des Pilzes übernommen haben, und den Klumpen der gewöhnlichen Orchideenpilze analog zu deuten sind. Die im Augenblick des Eindringens des Pilzes in die Pilzwirtzellen entstehende Stärkemenge wird von

diesem absorbiert und verschwindet ganz, worauf sich die erwähnten mit Jod bräunenden Massen in den Zellen vorfinden. Wir erhalten somit von dieser besonderen Form der Orchideenmycorrhiza ein viel klareres Bild, als von manchen anderen, über die viel umfangreichere Beschreibungen vorliegen. Nicht zum wenigsten tragen dazu die schönen Abbildungen bei. Warum Magnus (00) in seiner Kritik (S. 19) vermutet, es handele sich bei Lecanorchis um eine normale Knäuelverdauung, Janse habe die Hyphenknäuel des fortgeschrittenen Stadiums wegen nur nicht bemerkt, ist uns, zumal Janse noch uninfizierte Zellen der Verdauungsschicht beschreibt und abbildet, also doch wohl alle Stadien der Verdauung gehabt hat, unverständlich.

In theoretischer Beziehung ist die Mycorrhiza der Lecanorchis javanica von größerer Bedeutung, als alle anderen, finden wir bei ihr doch eine so auffallende Gewebedifferenzierung der Wurzel, die schon vor der Infektion ausgebildeten Riesenzellen, nirgends wieder. Ihr Vorhandensein ist aber einzig und allein in der Relation zum Wurzelpilz zu verstehen.

4. Die ectotrophe Mycorrhiza.

Echte ectotrophe Mycorrhiza finden wir bei den Orchideen nur sehr selten. In der gewöhnlichen Form der Waldbäume ist sie von Mac Dougal bei dem schon seiner endotrophen und seiner koralloiden Mycorrhiza erwähnten Aplectrum spicatum beschrieben. Die Wurzeln dieser Pflanze sind stückweise zwischen den Wurzelhaaren mit den Hyphen der benachbarten Baummycorrhiza bedeckt. Mac Dougal nimmt daher eine symbiotische Beziehung zwischen den Bäumen und Aplectrum an. Seitenzweige des Hyphenbelags der Aplectrumwurzel dringen durch die Epidermis in das Hypoderm ein und vermögen an manchen Stellen die äußeren verschwindenden Schichten durch einen obligaten Pilzmantel zu ersetzen. Die endotrophe Verpilzung der Wurzel wird hierdurch nicht gestört.

Die Stellung der von Mac Dougal beschriebenen Mycorrhiza von Cephalanthera oregana bleibt zweifelhaft. Das bei ihr vorkommende ectotrophe permanente Mycelium scheint auch eine endotrophe Mycorrhiza zu bilden.

5. Zusammenstellung der verschiedenen Mycorrhizaformen.

Wir können die genauer bekanten Formen der Orchideenmycorrhiza nach den Modifikationen des Endophyten in der Pflanze einteilen wie folgt:

Endotrophe Verpilzung.

I. Neottioide Form. Schnallenloses Mycel.

A. Infektion vom Rhizom aus. Pilzwirtzellen mit Ring- und Haustorienhyphen. Verdauungszellen mit Knäueln und Eiweißhyphen. Klumpenbildung. Keine regelmäßige Ausstrahlung des Pilzes in den Boden . . . . . Neottia.

B. Infektion durch die Trichome. Pilzwirtzellen ohne obige Differenzierung des Pilzes. Verdauungszellen mit Knäueln und Eiweißhyphen. Klumpenbildung. Zahlreiche Verbindungen des Pilzes mit dem Bodenmycel . . . . Ophrydeen: Phajus, Myrmechis, Cephalanthera oregana?

C. Infektion durch die Wurzelhaare. Echte Pilzwirtzellen fehlend. Verdauungszellen mit Knäueln und Eiweißhyphen. Klumpenbildung. Verbindungen des Pilzes mit dem Mycel im Substrat . . . . Neottieen (Ausnahmen unter A. und B.), Cypripedieen und Aplectrum, Tropische Epiphyten.

II. Koralloide Form. Mycel mit Schnallenfusionen. Infektion durch die jüngeren Rhizomteile, Pilzwirtzellen, Verdauungszellen mit Knäueln. Klumpenbildung. Starkes Ausstrahlen des Endophyten durch die Trichome . . . Corallorhiza und Epipogon.

III. Sporangiolenpilze.

Infektion durch die Epidermis. Pilzwirtzellen. Verdauungszellen mit Sporangiolen . . . Lecanorchis.

Ectotrophe Verpilzung.

Mycelmantel um die Wurzel. Hyphen in Epidermis und Hypoderm eindringend und sie gelegentlich ersetzend Aplectrum. Cephalanthera oregana?

D. Die Existenzbedingungen der Orchideen in ihrer Beziehung zum Wurzelpilz.

Die rein äußerliche Betrachtung der Vegetationsorgane der Orchideen gibt uns einen brauchbaren Einteilungsgrund. Wir kennen eine Reihe von Orchideenformen und Vegetationszuständen von solchen, die des Chlorophylls ganz oder teilweise entbehren.

Diese rekrutieren sich aus den echten Saprophyten und den Keimpflanzen fast aller terrestrischen Orchideen (Cypripediumtypus der Keimung); insbesondere aller bisher bekannten Einheimischen. Die letzteren mögen uns zuerst beschäftigen. Ihre Samen sind allein gänzlich unfähig zu keimen. Die mangelhafte Ausbildung, das Fehlen eines Endosperms, die Reduktion des Embryos, dessen Acotylie, brachten denn auch Forscher zu Anfang des 19. Jahrhunderts zu der Ansicht, die Orchideensamen keimten überhaupt nicht. Die Irrigkeit dieser Annahme zeigte dann Salisbury (1804), er fand die ersten Orchideenkeimlinge bei Orchis morio. In der Folge sind eine ganze Anzahl von Keimungsstadien verschiedener Orchideen bekannt geworden, die jüngsten wurden zuerst von Beer (63) beobachtet. Bernard endlich fand Neottiakeimlinge von einem endophytischen Pilz bewohnt, eine Erscheinung, die ihn auf den Gedanken eines Zusammenhanges zwischen Keimung und Pilzinfektion brachte, den er denn auch außer bei den Samen der Epiphyten, bei einer terrestrischen Orchidee, einem tro-

pischen Cypripedium, experimentell nachweisen konnte. Diese Bernard'sche Synthese der Orchideensymbiose erklärt uns, indem sie uns die Bedingungen der Keimung demonstriert, die Schwierigkeit des Auffindens der jüngsten Keimungsstadien. Der Embryo des Samens verdickt sich nach Einwanderung des Pilzes und wächst unabhängig vom Licht zum farblosen, kaum gegliederten Pflänzchen aus. Daß die Samen der übrigen, insbesondere der einheimischen terrestrischen Orchideen ähnlichen Keimungsbedingungen unterliegen, geht aus dem Aussehen und dem Standort der bekannt gewordenen Keimpflänzchen, und aus der Unfähigkeit der Samen, auf sterilem Substrat zu keimen, deutlich hervor. Samen von Orchis militaris, O. sambucina, O. fusca, Ophrys aranifera, O. Bertolonii, O. apifera, O. muscifera, Epipactis rubiginosa, Neottia nidus avis, Cypripedium guttatum × pubescens, C. insigne, C. spectabile, C. calceolus und Corallorhiza innata keimten nicht trotz einjähriger Kultur auf sterilisiertem Nähragar.

Die so gut wie bewiesene Notwendigkeit des Pilzes zur Samenkeimung läßt eine andere Frage auftreten. Wenn der Same des Pilzes bedarf, wird er ihn zu finden wissen. Es fragt sich also, ob wir dem Orchideensamen Einrichtungen zuerkennen dürfen, die ihn fähig machen, einmal in den Boden in die Nähe des Pilzes zu gelangen, zum anderen dem Pilz den Weg zu zeigen, auf dem er ihn erreichen und in ihn eindringen kann.

1. Samenbiologie.

Die Testa der Orchideensamen hat durch ihren eigentümlichen Bau schon seit langer Zeit die Aufmerksamkeit der Botaniker auf sich gezogen. Beer (63) bildet eine große Anzahl verschiedener Orchideensamen ab. Die Zellen des Integumentes werden an den Stellen, wo sie aneinander grenzen, stark verdickt und können, wie bei den Samen tropischer Orchideen, einem netzartigen Körper den Ursprung geben, dessen Maschen durch feine Häute, die tangentialen Wände

der Zellen überzogen sind. Diese gehen bei der Keimung verloren. Das Netzwerk vermag sich stark auszudehnen und umschließt z. B. bei Laelia den Keimling noch, wenn dieser Papillen ausbildet; er schiebt dann häufig seine absorbierenden Haare durch die Maschen des Netzes hindurch. Bei den Samen unserer einheimischen terrestrischen Orchideen ist die die Maschen schließende Haut fester, zeigt eine feine streifenartige Struktur und bleibt wohl bei der Keimung bestehen. Sie ist tief eingesenkt, während die aus den verdickten Seitenwänden bestehenden Ränder erhabene Leisten bilden, eine Struktur, die ganz auffallend an die anderer Samen, wie die der Orobancheen und an die vieler Kryptogamensporen erinnert.

Wie verhält sich nun der Same infolge dieser Struktur zu den umgebenden Medien?

Schüttet man eine genügende Menge Samen auf eine Wasserfläche, so kann man das von den Lycopodiaceensporen bekannte Versuchsergebnis erhalten: Der eingetauchte Finger bleibt unbenetzt. Wirft man die Samen auf Alkohol, so tritt diese Erscheinung nicht auf. Betrachten wir einen vordem trockenen Samen in Wasser, so finden wir alle Vertiefungen des Testanetzes mit kleinen Luftbläschen angefüllt, die sich nur durch starke mechanische Einwirkungen entfernen lassen. Setzen wir Alkohol zu, lösen sich die Bläschen aus den Vertiefungen leicht los, und es tritt Benetzung ein; nur in dem Inneren der Testa, in der Umgebung des Embryo, bleibt bei vielen Art Luft, die sich auf diese Weise nicht austreiben läßt. In Wasser bestehen andere physikalische Verhältnisse, als in Alkohol. Alkohol benetzt leichter, als Wasser. Der nach Behandlung mit Alkohol oder Äther benetzte, sogar bei höherer Temperatur extrahierte Samen zeigt getrocknet dieselben Eigenschaften gegen Wasser, wie vor der Extraktion. Das lediglich auf physikalischen Faktoren beruhende Festhalten der Luft, die durch die Form der Testa bedingte Unbenetzbarkeit scheint damit bewiesen.

Lüstner (98) hat dieser Erscheinung eine umfassende

Studie gewidmet. Er stellt die schon von Koch (87) bei Orobanchesamen konstatierte, hier durch das Einreißen der äußeren Testawände, das den Samen mit einer Schicht von außen hohlen Zellen umgibt, verursachte Unbenetzbarkeit bei einer großen Anzahl von Sporen der Lycopodiaceen, Ophioglossaceen, Gastromyceten, Tuberaceen und Myxomyceten fest.

Die biologische Bedeutung der Erscheinung sieht er mit Koch in dem erleichterten Passieren unbenetzbarer Sporen durch wasserhaltigen Boden, das ihnen gestattet, tiefere Bodenschichten, den Ort ihrer Bestimmung, zu erreichen.

Orchideensamen schienen sich ihm anders zu verhalten. Er sagt (S. 19): „Die sehr kleinen Orchideensamen ließen, wie mit diesen angestellte Versuche zeigten, eine solche Fähigkeit nicht erkennen."

Zur Erklärung dieser Ausnahme müssen wir uns einmal, die Orchideen verlassend, dem wichtigsten Versuchsobjekt Lüstners, den Lycopodiaceensporen zuwenden. Lüstner unterscheidet drei Typen von Sporen: Netzsporen, Tüpfelsporen und eine intermediäre Form. Netzsporen, d. s. solche, die mit einem in Wasser luftführenden Leistennetz versehen sind, besitzen unsere einheimischen Lycopodien außer Lycopodium inundatum, das mit dem epiphytischen cernuum der intermediären Gruppe angehört. Tüpfelsporen, die mit Tüpfeln zur raschen Wasseraufnahme bei der sofort eintretenden Keimung versehen sind, entbehren eines ausgeprägten Leistennetzes; typisch sind sie für Lycopodium phlegmaria und für die meisten anderen Epiphyten. Die einheimischen Lycopodien keimen unterirdisch, die Unbenetzbarkeit soll ihnen das Eindringen in den Boden und in die Nachbarschaft des mit hoher Wahrscheinlichkeit die Keimung auslösenden Wurzelpilzes erlauben. Die Epiphyten mit ihren Tüpfelsporen sind auf rasche Keimung an der Oberfläche angewiesen, wo man die Prothallien findet. Die Prothallien des intermediären Typus besitzen einen überirdischen und einen unterirdischen Teil. Unbenetzbare Sporen scheinen somit tatsächlich eine spezifische Eigenschaft der mit

unterirdischen Prothallien ausgestatteten Lycopodien zu sein. Analoge Verhältnisse findet Lüstner bei den Ophioglossaceen.

Vergleichen wir hiermit die Verhältnisse bei den Orchideen. Malguth (01) hat eine Klassifikation der Orchideensamen aufgestellt[1]):

I. Samen länglich gestreckt; Embryo durch die derb schleierartige Testa durchschimmernd, nur $^1/_3$ so lang als diese. Samen sägespähnartig. Bletilla, Cymbidium, Cypripedium, Phajus, Sobralia, Aceras, Gymnadenia, Orchis . . . . . Terrestrische Orchideen.

II. Samen mit kurzer Testa in Form eines anliegenden Sackes; staubförmig. Arten der Gattungen Lycaste, Anguloa, Odontoglossum . . Epiphytische Orchideen.

III. Mittelstufe. Testa größer, wie vorher; Laelia, Cattleya und Epipendrum einerseits, Cymbidium, Dendrobium, Brassia und Zygopetalum andererseits . . . . . Epiphytische und terrestrische Orchideen.

Die Samen der ersten Gruppe, der terrestrischen Orchideen, sind auch hier angewiesen auf die Keimung in der Erde, unter Mitwirkung des Pilzes analog den Verhältnissen der einheimischen Lycopodiaceen. Die der zweiten Gruppe sind zu Epiphyten gehörig, sie keimen am Licht, wie die epiphytischen Lycopodiaceen. Die der dritten Gruppe stammen von terrestrischen und epiphytischen Orchideen, sie entsprechen der Mittelstufe bei den Lycopodiaceensporen. Der Grad der Benetzbarkeit der Samen der drei Gruppen entspricht nun tatsächlich ebenfalls dem der Lycopodiaceen.

Definieren wir den Begriff Benetzbarkeit. Benetzbarkeit bedeutet die Fähigkeit eines Körpers, die Teilchen einer Flüssigkeit anzuziehen und festzuhalten. Sie ändert sich einmal mit der Beschaffenheit der Flüssigkeit. Glas ist z. B. für

[1]) Die wenigen bekannten Samenformen mit festem Integument und die mit flügelähnlicher Ausbildung desselben sind als spezifische Anpassungen hier nicht berücksichtigt worden.

Quecksilber nicht benetzbar, jedoch für Wasser. Quecksilber hat eine zu hohe Kohäsion seiner Teilchen, Wasser eine weniger hohe, Alkohol eine noch geringere, er benetzt also Glas noch besser, als Wasser. Mit der Abnahme der Kohäsion verbunden ist die gesteigerte Fähigkeit, in engen Räumen die Luft zu verdrängen, da die Kohäsion der Flüssigkeitsteilchen geringer ist, wie ihre Adhäsion zu den Teilchen des festen Körpers. Unsere Flüssigkeit ist das Wasser, der benetzbare Körper sind die Testawände des Samens. Die Affinität dieser zu Wasser und Luft festzustellen, ist uns nicht möglich; doch können wir die Festigkeit prüfen, mit der die Luft in den vertieften Zellen der Testa festgehalten wird.

Wir bestimmen die Dauer der Schwimmfähigkeit des Samens unter der Voraussetzung, daß jeden Tag Wasser und Samen kräftig durchgeschüttelt werden. Das Aufhören der Schwimmfähigkeit wird dabei bedingt durch mechanische Einflüsse einerseits, die die Luft aus den Kammern der Testa entfernen können, durch eine Veränderung der Beschaffenheit der Kammerwände andererseits, da letztere, einmal an wenigen Stellen aufgeweicht, ihre für das Festhalten der Luft wesentliche Form verlieren dürften.

Die Schwimmfähigkeit des Samens hängt wieder von zwei Faktoren ab: einmal von dem Auftrieb der kapillar von der Testa festgehaltenen, zum anderen dem der bei vielen Samenformen im Inneren der Testa neben dem Embryo vorkommenden Luft. Der erste ist der für uns allein wichtige. Er bestimmt die Benetzbarkeit des Samens als solche. Um den anderen zu eliminieren wurde ein Parallelversuch angestellt, bei dem die Samen mit Alkohol benetzt — die Luft verschwindet dabei aus den Vertiefungen der Testa, während die in sie eingeschlossene erhalten bleibt — und dieser durch Wasser ersetzt wurde. Die Dauer der Schwimmfähigkeit der so behandelten Samen wurde von der der unbenetzten subtrahiert.

Auf diese Weise entstand Tabelle III. Spalte 1 enthält die Anzahl der Tage, während welcher die Hälfte der täglich

durchgeschüttelten Samen an der Oberfläche des Wassers verblieb; Spalte 2 die Anzahl der Tage, während der die Hälfte der täglich durchgeschüttelten vorher benetzten Samen an der Oberfläche blieb; Spalte 3 die Differenz beider, gewissermaßen die Benetzbarkeitskonstante.

Im besonderen ist zu bemerken: Die Samen wurden in 2 cm weite Reagiergläser in einer derart abgemessenen Menge gebracht, daß sie die Oberfläche des Wassers kaum in einer geschlossenen Schicht bedeckten. Bringt man mehr Samen auf, so werden die unteren von den oberen unter Wasser gedrückt und rascher benetzt. Jeden Tag schüttelte ich den Inhalt der Gläser heftig durch, so daß sich an der Glaswand klebende Samen loslösten. Die vorher mit Alkohol und Wasser benetzten Samen nahmen an der Oberfläche des Wassers häufig in einige Vertiefungen der Testa wieder Luft auf, weshalb die Zahlen der Spalte 2 etwas zu hoch gegriffen sind. War die Hälfte der Samen in jedem Fall untergegangen, wurde das Experiment abgebrochen. In den Fällen, in denen die Samen mehr als 60 Tage unbenetzt blieben, setzte ich das Zeichen ∞. Die Ergebnisse für eine Reihe anderer Samen und Sporen wurden zum Vergleich angegeben.

Tabelle III.

Epiphytische Orchideen.	I	II	III
Angraecum sesquipedale	0	0	0
Lycaste Skinneri	1	0	1
Chysis bractescens	1	0	1
Odontoglossum grande	1	0	1
Dendrobium nobile	1	0	1
Epidendrum cochleatum	2	0	2
Pleurothallis pulchella	2	0	2
Stanhopea tigrina	3	1	2
Laelio-Cattleya Acis	4	0	4
Xylobium squalens	7	0	7
Cattleya citrina	9	1	8
Terrestrische Orchideen.			
Orchis maculata	27	8	19
Orchis mascula	18	7	11

Terrestrische Orchideen.	I	II	III
Orchis pallens	28	8	20
Ophrys apifera	6	3	3
Ophrys muscifera	13	4	9
Himanthoglossum hircinum	21	9	12
Coeloglossum viride	27	8	19
Platanthera chlorantha	16	5	11
Platanthera bifolia	11	4	7
Gymnadenia conopea	14	5	9
Epipactis palustris	32	7	25
Epipactis rubiginosa	23	7	16
Epipactis latifolia	16	5	11
Neottia nidus avis	6	2	4
Cephalanthera grandiflora	28	5	23
Goodyera repens	60	6	60
			(∞
Listera ovata	6	4	2

Tabelle III.

Terrestrische Orchideen.	I	II	III
Corallorhiza innata	60	7	60 (∞)
Liparis Loeselii	49	8	41
Cypripedium calceolus	25	7	17
Cypripedium guttatum	60	6	60 (∞)
Pirolaceen.			
Monotropa hypopitys	6	1	5
Pirola umbellata	9	1	8
Pirola chlorantha	9	3	6
Lycopodiaceen:			
Lycopodium clavatum	4	0	4
Pirolaceen.			
Pirola rotundifolia	9	1	8
Pirola secunda	5	1	4
Gentianeen.			
Gentiana ciliata	5	2	3
Gentiana acaulis	1	0	—[1]
Gentiana cruciata	1	0	—[1]
Gentiana germanica	1	0	—[1]
Gentiana campestris	1	0	—[1]
Orobancheen.			
Orobanche hederae	5	0	5

Wir erhalten bei der Zusammenstellung der Tabellenwerte folgendes:

11 Gattungen epiphytischer Orchideen mit . 29 Einheiten.
21 Gattungen und Arten terrestrischer Orchideen mit . . . . . 439 ..
5 Gattungen und Arten Pirolaceen mit . . 31 ..

Im Durchschnitt kommen also auf die Samen:

epiphytischer Orchideen . . . . . 3 Einheiten.
auf die terrestrischer Orchideen . . . . . 21 ..
auf die der Pirolaceen . . . . . 6 ..
dazu die ebenfalls spahnförmigen Samen der Gentiana ciliata mit . . . . . 3 ..
die Samen der Orobanche hederae mit . . 5 ..
die Netzsporen des Lycopodium clavatum mit 4 ..

Was uns an dem Versuchsergebnis zunächst interessiert ist die Tatsache, daß von allen diesen — mit Ausnahme der Orobanche wahrscheinlich oder sicher bei der Keimung mycotrophen — schwer benetzbaren Samen und Sporen die der terrestrischen Orchideen den höchsten Grad dieser Eigenschaft erreichen, und insbesondere den siebenfachen im Vergleich mit ihren epiphytischen Verwandten.

Die Analogie im Verhalten der Orchideensamen und der

[1]) länger unbenetzbar, aber von zu hohem spezifischen Gewicht.

Lycopodiaceensporen erscheint daher evident. Ist die geringe Benetzbarkeit also ein Vorteil für das Eindringen in den Boden, so eröffnet sich uns ein weiter Ausblick in die Biologie der Keimung.

Koch, von dem diese Annahme stammt, denkt sich den Ablauf des Vorganges folgendermaßen: er beschreibt die Testa der Orobanchesamen und schließt aus ihrer Beschaffenheit (S. 181): „Wir sahen, daß die Testa ihre Außenwandung nur sehr schwach anlegt, daß die schwachen Wände teils einreißen, teils auch, wohl infolge mechanischer Eingriffe, ganz entfernt werden. Im letzteren Falle ist die Samenoberfläche von geöffneten muldenförmigen Zellen bedeckt, in die Wasser sehr schwer eindringt. Im ersteren besitzt das Korn mit Luft gefüllte Oberflächenzellen. Der Samen wird infolgedessen vom Wasser getragen. Bringt man ihn auf die genannte Flüssigkeit, so schwimmt er, selbst wenn man ihn häufig untertaucht, wochenlang. Entzieht man ihm, und zwar speziell den Zellen der Testa, die Luft vermittelst Alkohol, ersetzt man diesen durch Wasser, so gehen die Körner unter. Die Testa fungiert somit als Schwimmapparat. Ein solcher erleichtert die Beförderung im Boden beträchtlich. Bei ihr spielt, wie wir wissen, die Wasserbewegung eine wichtige Rolle. Würden die Samenkörner in den zeitweise zwischen den Bodenpartikelchen befindlichen Wassersäulen untersinken, so könnten sie häufig durch Bodenteilchen festgehalten werden. Das schwimmende Korn dagegen wird leichter mitgeführt und hat somit mehr Aussicht, in Kontakt mit einer Nährwurzel, der ja der Keimung voranzugehen hat, zu treten.

Lüstner hat den experimentellen Beweis für ein analoges Verhalten der mit Netzstruktur versehenen Lycopodiumsporen erbringen wollen. 8 cm hohe Blumentöpfe füllte er mit Torfstücken an und gab oben Lycopodiumsporen (clavatum) auf. Die Töpfe benetzte er mit einem künstlichen Regen. Das aus den Löchern im Boden kommende Wasser kontrollierte er auf Sporen und stellte fest, daß die Sporen den Topf und die

Torfstückchen passierten.[1]) Farnsporen und Orchideensamen zeigten diese Erscheinung nicht.

Da die letzte Ausnahme mir unverständlich erschien, stellte ich folgende Versuche an: Zwei Glaszylinder von 6 cm Weite füllte ich mit kleinen Torfstückchen an und gab in einem Fall unbenetzte, im anderen mit Alkohol und dann mit Wasser benetzte Samen von Gymnadenia conopea in gleicher Menge auf. Dann wurde langsam auf beide Zylinder Wasser gegossen. Es zeigte sich tatsächlich, daß die unbenetzten Samen fast nicht eindrangen, da sie auf dem Wasser schwimmend, sich in derselben Weise wieder absetzten und so orientiert blieben, wie sie es vorher gewesen waren. Von den benetzten jedoch waren nach Aufgabe der gleichen Menge Wasser einige bis in die Mitte des 10 cm hohen Zylinders vorgedrungen. Laelio-Cattleyasamen verhielten sich analog. Die Schwimmfähigkeit schien auch bei ihnen das Eindringen in den Boden zu verhindern.

Diese Experimente gaben den Anlaß zu einer Nachuntersuchung der Verhältnisse bei den Lycopodiaceensporen. Zwei ca. 10 cm hohe Blumentöpfe füllte ich mit Torfstückchen. Die gleiche Menge von Lycopodium clavatum-Sporen wurde

[1]) Von den durchgegangenen Lycopodiumsporen gibt Lüstner an, daß sie durch dieses Experiment für immer benetzbar geworden seien. Er nimmt mit Kamerling (97) an, daß die Oberflächengrübchen der Sporen mit einer feinen Membran verschlossen, die Luft wie in einer Kammer festhalten. Diese Membran soll beim Durchgang der Sporen zwischen den Torfstückchen zerreißen und die Sporen sollen dann benetzt werden. Kamerling hat die Membran nicht gesehen, sondern auf ihr Vorhandensein daraus geschlossen, daß die Sporenkammern beim Reiben der Sporen in Glyzerin successive ihre Luftbläschen verlieren. Da dem Glyzerin aber als einem Alkohol eine höhere Fähigkeit des Benetzens eigen ist, als dem Wasser, ist dieser Schluß nicht berechtigt. Die mechanische Einwirkung unterstützt das Eindringen der Flüssigkeit in die durch physikalische Eigenschaften die Luft festhaltenden Kammern, weil die stacheligen Ränder dieser Kammern, auf deren Beschaffenheit es hauptsächlich anzukommen scheint, Formveränderungen erleiden. Die Kamerling'sche Membran läßt sich übrigens auch mit den stärksten Systemen nicht feststellen. Die Tatsache, daß die Lycopodiaceensporen nach dem Durchgang durch die Torfschicht und ihrem Austrocknen eine etwas erhöhte Benetzbarkeit zeigen, ist also nicht durch das Einreißen jener hypothetischen Membran zu erklären, sondern läßt sich auch unter der Annahme verstehen, daß die Ränder der Luftkammern während des Durchgangs ihre Form verlieren.

auf jeden Topf gebracht und fein auf der Oberfläche des Torfes verteilt. Die Sporen waren in einem Falle trocken, im anderen Falle zuerst mit Alkohol und dann mit Wasser benetzt. Nun wurden auf jedes Gefäß 300 ccm Wasser langsam in einem dünnen Strahle aus größerer Höhe aufgegossen, das den Bodenlöchern entlaufende Wasser auf Filter geleitet und filtriert. Die durch die Torfschicht gehenden Sporen blieben auf dem Filter zurück.

Von 5 g unbenetzen Sporen hatten die Torfschicht passiert . . . . . 0,044 g.

Von 5 g benetzten Sporen hatten die Torfschicht passiert . . . . . 0,223 g.

Noch verschiedener gestaltet sich das Verhältnis in Wirklichkeit, denn die annähernd gleiche Menge mitgewogenen Schmutzes bedingt bei 0,044 g einen größeren Fehler, als bei 0,223 g. Tatsächlich war der Filterrückstand im ersten Fall fast schwarz, im zweiten gelblich und nur wenig dunkler, als die Sporen selbst.

Dieses Experiment entspricht nicht nur der Koch'schen Annahme nicht, sondern scheint sogar das Gegenteil zu beweisen. Die Unbenetzbarkeit der Sporen verhindert das Eindringen in den Boden, statt es zu fördern. Die Beobachtung bestätigt dies.

Gießt man auf ein Glasgefäß mit Erde oder Torf, dem Sporen aufgestreut sind, Wasser, so sieht man alle Sporen an die Oberfläche des Wassers treten, und sich, wenn dieses eingesickert, in derselben Lage, wie vorher wieder absetzen. Beobachten wir einen einzelnen Wassertropfen in der Tiefe des Gefäßes. Ein Hohlraum zwischen dem Substrat füllt sich mit Wasser. Die Sporen in ihm treten sofort an die Decke des Raumes und setzen sich, wenn er wieder wasserfrei wird, wieder in der alten Lage ab. Spritzt man das Wasser heftig auf, so dringen sie besser ein, werden dann aber, wie sich leicht nachweisen läßt, benetzt. Fast alle Sporen, die bei unserem Ex-

periment den Topf unten verließen, waren benetzt und schwammen im Wasser, analog dem Lüstner'schen Versuch.

Die Koch-Lüstner'sche Deutung der Unbenetzbarkeit von Sporen und Samen als einer Einrichtung zum besseren Transport im Boden vermittelst des Wassers ist somit nicht möglich. Eine Verschiedenheit im biologischen Verhalten von Orobanchesamen, Orchideensamen und Netzsporen besteht nicht.

Suchen wir daher eine andere Deutung, und kehren wir zu unseren Orchideensamen zurück. Es gibt zwei Möglichkeiten; beide schließen sich nicht aus, sondern ergänzen sich zum einheitlichen Bild.

Die Einrichtung des Integuments verhindert ein Naßwerden des Samens. Gießen wir auf ein Gefäß mit Wasser eine größere Menge Orchideensamen; wir blasen darauf, und alle Samen, die nicht mit dem Wasser in Berührung sind, fliegen davon. Es bleibt eine geschlossene einschichtige Samendecke auf dem Wasser. Ein Teil der Samen sichert einem anderen die Verbreitungsmöglichkeit durch den Wind, indem er die klebrige Wasserfläche unschädlich macht. Diese Versuchsanordnung dürfte den Verhältnissen in der Natur jedoch der dort vorhandenen nur geringen Samenmengen wegen nicht entsprechen, doch kommt einigen verwandten Erscheinungen Bedeutung zu. Die Samendecke auf der Wasserfläche ist, so lange noch trockene Samen auf ihr liegen, beliebig dehnungsfähig; stecken wir den Finger hinein, so vergrößert sie sich gewissermaßen durch Intussusception wachsend, und der Finger bleibt unbenetzt. Umgekehrt: ziehen wir den Finger wieder heraus, so werden die überschüssigen Partikel wieder aus der Decke entfernt und liegen, teils Luftbläschen umschließend, unter der Oberfläche des Wassers, oder Wassertröpfchen umgebend über dieser. Diese letzteren interessieren uns am meisten. Wenn das Wasser verdunstet, liegen die es umgebenden Samen trocken auf der Samendecke des Flüssigkeitsspiegels und lassen sich fortblasen.

Knetet man eine größere Menge Samen mit Wasser an, bis sie ganz benetzt sind, und formt man aus dem erhaltenen Brei einen kleinen Körper, z. B. einen Würfel, so hält dieser nur so lange zusammen, als die Samen feucht sind. Es beginnen zunächst die äußeren Samen zu trocknen und später auch die inneren. So wie sie trocken sind, ist jeder Zusammenhang gelöst, der Würfel läßt sich schon durch ein schwaches Blasen in seine Teile, die einzelnen nun wieder unbenetzbaren Samen zerlegen. Dieser letzte Versuch, der mit Samen von einheimischen Orchideen und denen von Laelio-Cattleya gelingt, entspricht genau den Verhältnissen noch feuchter oder neu befeuchteter Samen in der Kapsel der Mutterpflanze, und erklärt die Unbenetzbarkeit als eine Einrichtung zum erleichterten Austrocknen, zur Verhinderung des Aneinanderklebens der Samen und der damit regelmäßig erfolgenden Abtragung durch den Wind.

Eine vergleichende Betrachtung der Verhältnisse bei den Orchideen verschiedener Gruppen scheint diese Annahme zu bestätigen. Wenden wir unsere Aufmerksamkeit noch einmal auf Malguths Klassifikation der Orchideensamen und die Grade ihrer Benetzbarkeit in unserer Tabelle.

Malguths Samentypus I, die „sägespähnartigen" Samen, darunter die unserer einheimischen terrestrischen Orchideen, halten die Luft fest mit einer Konstanten von 27 Einheiten. Der Typus II, die „staubförmigen" Samen, als Beispiel Lycaste, mit der Konstanten 1. Typus III, so Laelio-Cattleya mit der Konstanten 4. Die Benetzbarkeit ist also am größten beim Typus Lycaste, geringer bei Laelio-Cattleya, am geringsten bei den terrestrischen Orchideen. Und nun die Erklärung. Malguth hat bei seiner Zusammenstellung, die wir früher hier wiederholten, noch einige Angaben gemacht, die wir jetzt nachtragen müssen:

Typus II, so Lycaste und Odontoglossum besitzen in ihren Kapseln sehr zahlreiche, lange, einzellige Schläuche, die sich von der Kapselwand lösen und als Elateren fungieren. Sie

mengen die Samen bei eintretenden Feuchtigkeitsschwankungen durcheinander, veranlassen damit ihr Austrocknen und verhindern ihr Zusammenkleben zu Klumpen: die Samen können von den Luftströmungen einzeln abgetragen werden.

Gruppe III, so Laelio-Cattleya besitzt nach Malguth am Rande der Kapselspalten aus mehreren Schläuchen bestehende Borsten, die eine Art von Capillitium bildend, die herausfallenden, schon weniger leicht zusammenklebenden Samen filtrieren und einzeln dem Wind darbieten, andere Gattungen statt dessen nur wenige der oben erwähnten Schläuche.

Bei der Gruppe I fehlen die Elateren oder das Capillitium überhaupt oder sind nur rudimentär. Die Samen, so die unserer terrestrischen Orchideen sind von einer ganz besonders geringen Benetzbarkeit. Die Struktur der Testen ermöglicht ein leichtes Austrocknen der gesamten Samenmasse in der sich eben öffnenden Kapsel. Das Zusammenkleben ist vermieden und keinerlei Bedürfnis für ein Capillitium vorhanden. Die Samen werden auch so dem Winde einzeln anheimfallen.

Es resultiert aus voriger Zusammenstellung die Deutung der Unbenetzbarkeit und damit der Struktur der Testawand als einer Anpassung an das erleichterte Austrocknen der in der geschlossenen Kapsel noch feuchten Sporenmasse und an die damit ermöglichte regelmäßige Abtragung durch die Luftströmung.

Die Samen hoher Benetzbarkeit, so besonders die staubförmigen Samen der vieler Epiphyten bedürfen eines besonderen Aussäungsmechanismus in Form der Elateren. Die geringer Benetzbarkeit entbehren ihn entweder ganz, wie die der einheimischen terrestrischen Orchideen, oder teilweise, wie die Vertreter der Malguth'schen Zwischengruppe.

Beim Aussäen der Samen kann man die Unterschiede in dem Verhalten zwischen Samen der elaterenlosen und solchen

der elaterenführenden Formen leicht beobachten. Säet man Samen von einheimischen Orchideen oder tropischen Cypripedien aus, so gelingt es ohne weiteres, die Samen durch Fallenlassen aus größerer Höhe fein auf die Oberfläche des Substrates zu verteilen. Bei Samen von Odontoglossum, die hier bei künstlicher Aussaat ihrer Elateren entbehren, gelingt es dagegen schwer. Größere oder kleinere Samenmengen bleiben beim Herunterfallen zu Aggregaten vereinigt. Ähnliches läßt sich bei manchen Arten von Cattleya, die auf der Malguthschen Mittelstufe stehen, feststellen.

Diese Deutung der Unbenetzbarkeit bei den Orchideensamen läßt sich außer auf die Samen der Orobancheen, Pirolaceen und einer Gentianee (G. ciliata) auf sehr viele Sporenformen anwenden, so auf die Netzsporen der Gastromyceten, Tuberaceen und Myxomyceten. Das hier häufig neben unbenetzbaren Sporen auftretende Capillitium kann uns in dieser Deutung nicht irre machen, da sehr wohl eine doppelte Anpassung nach derselben Richtung denkbar ist.

Außer der Windverbreitung der Orchideensamen mag in manchen Fällen noch die Verbreitung durch das Wasser eine Rolle spielen, das die Samen an der Oberfläche tragend transportieren kann, bis sie, endlich benetzt, in eine Erdspalte gelangen oder irgendwo abgesetzt austrocknen und wiederum vom Winde aufgenommen werden.

Das Eindringen in den Boden bei den Samen der terrestrischen Orchideen erscheint uns mit ganz besonderen Schwierigkeiten verknüpft. Selbst benetzte Samen werden nur sehr langsam mit in den Boden genommen. Das voluminöse Integument und das geringe spezifische Gewicht erscheint ihnen hierbei besonders hinderlich. Die Netzsporen der Lycopodiaceen sind durch ihre Kleinheit eher dazu im Stande. Bruchmann hat in demselben Jahre, wie Lüstner (98) Versuche zu dieser Frage angestellt. Er gab Sporen unserer einheimischen Lycopodien auf verschiedene Arten von Walderde und setzte die Gefäße, die diese enthielten, intensivem Regen aus. Das auf-

gefangene Filtrat enthielt benetzte Sporen. Bruchmann schreibt der Gewalt der auffallenden Regentropfen eine ganz besondere Bedeutung für das Eindringen der Sporen zu; er spricht von einem „Durchgeschlagenwerden" der Sporen durch die Spalten des Bodens. Die Luftumhüllung der Sporen hält er dabei ähnlich, wie Lüstner für förderlich. Die Bedeutung des Hineingeschlagenwerdens liegt unserer Ableitung nach jedoch gerade in der dadurch hervorgerufenen Verdrängung der Luft aus den Kammern der Sporenexine und erst wenn diese verdrängt ist erfolgt, die „Bestattung" der benetzten Sporen. Ähnlich mag es sich bei den in der Erde keimenden Orchideensamen verhalten, doch sicherlich nicht so einfach.

Es wäre hier vielleicht die Möglichkeit gegeben, die Koch-Lüstner'sche Deutung der Netzstruktur bei Samen und Sporen als ein Mittel zur erleichterten „Bestattung" mit Ausschluß eines Faktors, der Wasserwirkung, gerade für den gänzlich trockenen Boden gelten zu lassen. Die Verbreitung der Sporen und Samen findet bei trockenem Wetter statt, und es ist denkbar, daß die leichten Samen und Sporen in dauernd feuchte Spalten und Hohlräume des Bodens gelangen können. Ist der Same glücklich in feuchtere Erdschichten gelangt, und in die Nähe des Endophyten, so muß der Pilz den Weg zu ihm finden, wenn der Same keimen soll.

Lüstners Unterscheidung der Netz- und Tüpfelsporen bei den Lycopodiaceen hat uns als Ausgangspunkt zur Eruierung einer anderen Bedeutung der Unbenetzbarkeit mancher Sporen und Samen gedient, die zum Unterschied mit der ersteren in unmittelbarem Zusammenhang mit ihrer Mycotrophie steht. Um kurz zu wiederholen: Die teilweise chlorophyllführenden rasch keimenden Sporen der epiphytischen Lycopodiaceen der Tropen sind Tüpfelsporen. Die Tüpfel ermöglichen ihnen die sofortige Wasseraufnahme, wenn sie die Sporangien der Mutterpflanze verlassen haben. Der Endophyt infiziert erst das junge Prothallium. Die chlorophyllosen Netzsporen der terrestrischen Formen sind dagegen mit äußerster

Wahrscheinlichkeit schon bei der Keimung mycotroph und können erst einige Zeit nach der Aussaat die hierzu günstigen Bedingungen finden.

Hier scheint ein Widerspruch gegen unsere vorherige Hypothese vorzuliegen. Wie verlassen denn die benetzbaren Tüpfelsporen die Sporangien der Mutterpflanze, wenn sie der Elateren entbehren. Die Antwort auf diese Frage ist darin zu suchen, daß auch den Tüpfelsporen eine, wenn auch sehr schwach ausgebildete Netzstruktur, ein feines Leistenwerk zukommt, — Lüstner (p. 14) spricht von „niedrigen sehr zarten Leisten, welche gewissermaßen einen schwachen Anfang, oder einen letzten Rest des Netzreliefs darstellen“ und ähnlich Göbel (Lüstner, cit. p. 15) — das eine Luftschicht zwischen den einzelnen Sporen erhält und das Aneinanderkleben verhindert. Hygroskopische Bewegungen der beiden Sporangienklappen befördern das Ausstreuen, wie ich an Alkoholmaterial von Lycopodium phlegmaria beim Eintrocknen beobachtete. Wenn nun aber schon die schwache Ausbildung des Leistennetzes bei den Tüpfelsporen der Epiphyten die Möglichkeit der Aussäung garantiert, so muß für die Netzsporen die Aussäung eine bei weitem leichtere sein — was ja denkbar ist — oder eine besondere Funktion in Zusammenhang mit dieser hohen Unbenetzbarkeit vorliegen.

Die Keimung der Netzsporen ist noch nicht bekannt geworden — ausgenommen der von Lycopodium inundatum (de Bary 58), die aber eine Zwischenstellung zwischen Netz- und Tüpfelsporen einnehmen. — Über die älteren Prothallien und ihre Mycotrophie wissen wir durch Bruchmanns Arbeiten Bescheid. Viele Forscher haben sich vergeblich abgemüht, die Sporen zur Keimung zu bringen. Die schon von Bernard ausgesprochene Vermutung einer analogen Keimweise von Lycopodiaceen-Netzsporen sowie Orchideensamen dürfte die Zukunft bestätigen. Wir gehen noch einen Schritt weiter und setzen voraus, daß bei der Keimung der Netzsporen eine Analogie mit der der terrestrischen Orchideensamen bestehe.

insbesondere, daß der Pilz die Keimung der bis dahin unveränderten Sporen und Samen auslöse.[1]) Mit dieser Annahme scheint die besonders weitgehende Ausbildung der Unbenetzbarkeit bei den terrestrischen Lycopodien insofern erklärlich, als diese als Anpassung gegen die zu rasche Abgabe chemotropisch auf den Pilz wirkender Stoffe zu deuten sein dürfte, die je nach Lokalisierung des Stoffes auf einfacher Auslaugung der Exine beruhen oder was wahrscheinlicher ist, von der lebenden Zelle nach erfolgter Wasseraufnahme erfolgen könnte.

Diese reine bei den Lycopodiaceensporen lediglich auf die Analogie mit den Keimungsverhältnissen bei den epiphytischen Orchideen gegründete Hypothese läßt sich ebensogut auf die Samen der Orchideen übertragen, sie braucht unserer früheren Deutung in keiner Weise zu widersprechen.

Die Verhältnisse bei den Orchideen sind auch hier ganz denen der Lycopodiaceen homolog. Die Samen der epiphytischen Orchideen sind auf sofortige Keimung angewiesen, manche (Platyclinis glumacea Benth.) besitzen Chlorophyll. Die Dauer ihrer Keimfähigkeit ist eine relativ geringe, wie auch Bernard häufig betont.[2]) Manche Gattungen, wie Cattleya und Laelia keimen sofort und werden erst als junge Pflänzchen vom Pilze abhängig.

Die Samen der terrestrischen Orchideen bleiben anscheinend entsprechend ihren schwerer zu erfüllenden Keimungsbedingungen länger liegen.[3]) Sofortige Keimung kennen wir nur bei der hygrophilen Bletilla hyacinthina. Ihr Keimungsplatz im Boden ist auch nicht annähernd so rasch zu erreichen

---

[1]) Es gelang mir bisher nicht, den aus Prothallien von Lycopodium annotinum, die ich der Güte Herrn Prof. Bruchmanns verdankte, herausgenommenen Pilz in Kultur zum Wachsen zu bringen; ebensowenig wuchsen aseptisch dem Rhizom von Psilotum entnommene Pilzvesikel aus.

[2]) Während frische Odontoglossumsamen in unseren Kulturen mit geeigneten Pilzen sofort keimten, hatten einjährige ihre Keimfähigkeit verloren.

[3]) Bei tropischen Cypripedien ist das unregelmäßige, zuweilen um ein Jahr und mehr verzögerte Aufgehen der Saaten den Orchideenzüchtern bekannt. (Nach mündlicher Mitteilung des Herrn P. Wolter, Magdeburg.)

wie der der Epiphytensamen. Der Hemmnisse, die ihnen in den Weg treten, haben wir zur Genüge erwähnt.

Folgern wir zunächst rein theoretisch weiter, so erhellt, daß der unter mannigfachen Einflüssen von Wind und Wasser an seinen Bestimmungsort gelangte Same der terrestrischen Orchidee trotz dieser Einflüsse noch die Fähigkeit besitzen muß, den endophytischen Pilz anzulocken, was sich wieder nur durch die Emission eines geeigneten chemotropischen Agens erklären ließe.

Während bei den Samen epiphytischer Orchideen ein solches Agens etwa sofort nach dem Auffallen des Samens auf feuchtes Substrat in Lösung gehen könnte, bedürfte es bei den terrestrisch keimenden Samen einer Einrichtung, die bezweckte, die zu zeitige Auslaugung des betreffenden Stoffes zu verhindern. In der schwer vom Wasser durchsetzbaren Testa des Samens ist uns nun diese Einrichtung gegeben, sie erklärt uns auch die bei den terrestrischen Orchideen so außerordentlich hoch gesteigerte Unbenetzbarbeit der Samen, eine Eigenschaft, die sich in den extremen Fällen nicht allein durch die Beziehungen des Samens zur Aussäung verstehen lassen dürfte.

Folgende Experimente bestätigen unsere Annahme einer zweiten Funktion der schwer benetzbaren Testa im angegebenen Sinne. Die Versuchsanordnung war folgende:

Glaskapillaren von 0,4—0,5 mm Dicke führte ich mit dem einen Ende in den Kulturagar von O. psychodis ein und zog sie dann heraus. In jeder Kapillare blieb dabei ein etwa 2 mm langer Ausstich vom Agar stecken. Sodann brachte ich unter dem Präpariermikroskop in einen Teil der Kapillaren je wenige Samen der zu untersuchenden Orchideen-Arten und fuhr ein zweites Mal mit den mit Samen beschickten und ebenso mit den nicht beschickten Kapillaren in den Agar hinein, diesmal jedoch etwas tiefer. Nunmehr befand sich in jeder Kapillare ein etwa 5 mm langer Agarfaden mit oder ohne Samen im inneren Teile. Je eine von beiden Sorten

wurde nun einander mit der Mündung gegenüber und senkrecht zur Wachstumsrichtung des Pilzes in den Agar einer jungen Psychodiskultur so eingedrückt, daß die Hyphen die Mündungen in wenigen Stunden erreichten. Die regelmäßig in radialer Richtung fortwachsenden Langhyphen ließen sich nicht beeinflussen, sie entsandten Kurzhyphen, die nun regelmäßig in die mit Samen versehenen Kapillaren eindrangen, die samenfreien jedoch immer mieden. Diese Verhältnisse bestanden bei trocken in die Kapillaren gebrachten Samen von Odontoglossum und Laelio-Cattleya einerseits, andererseits bei vorher im Vakuum unter Wasser benetzten von Gymnadenia conopea und Epipactis rubiginosa. Unbenetzt in den Agar der Kapillare gebrachte Samen von Epipactis hielten die Luft in den Kammern der Testa fest und veranlaßten den Pilz erst nach 8—14tägigem Liegen in der Kultur sie aufzusuchen. Die Kontrollkapillaren blieben auch nach dieser Zeit noch pilzfrei. Bei Samen von Conopea konnte die Reaktion des Pilzes durch mehrtägiges Extrahieren der benetzten Samen mit Wasser zwar nicht verhindert, doch deutlich geschwächt werden.[1])

Resümierend können wir feststellen, daß die Netzstruktur der Samentesta der Orchideen in erster Linie als Anpassung an die durch sie ermöglichte Abtragung aus den Behältern der Mutterpflanzen durch den Wind und die dadurch vermittelte Aussäung, in zweiter und speziell bei den Samen der terrestrischen Orchideen, als Anpassung gegen die sonst zu rasch erfolgende Auslaugung der an die Testa gebundenen chemotropisch auf den Pilz wirkenden Stoffe zu deuten ist.

Aus vorigem erklärt sich nun zur Genüge, wie der von der Mutterpflanze ausgestreute Same mit Hilfe von Wind und

[1]) 5 g benetzte Samen von Gymnadenia conopea lieferten mir nach eintägiger Extraktion mit Wasser 0,174 g eines bräunlichen, teilweise kristallisierenden beim Kochen der Lösung zersetzlichen Stoffes, der sich nicht mit Sicherheit chemotropisch zu dem Conopea-Pilz verhielt.

Wetter an den Platz seiner Bestimmung in den Boden und die Nachbarschaft des Pilzes gelangt, und wie dieser ihn aufzufinden vermag. Wir wollen zusehen, was weiter mit dem Samen geschieht. Nach erfolgter Pilzinfektion bietet sich uns bei fast allen Gattungen dasselbe Bild.

2. Homologien bei den Keimpflanzen.

Thilo Irmisch (50, 53) hat das Verdienst, zuerst Licht in die bis dahin fast unbekannte Entwicklungsgeschichte der Orchideen gebracht zu haben; er vergleicht die Keimungsphänomene einer ganzen Reihe von Gattungen. Übereinstimmend sieht er bei allen ein Organ aus dem Embryo des Samens hervorgehen, die Embryoachse, eine kleine rübenförmige Knolle, die die erste Zeit ihres Lebens an dunklem Orte zubringt und daher farblos ist. Am oberen Ende trägt sie eine Blattanlage, an der Peripherie Wurzelhaare, am unteren lassen sich zuweilen Reste des Samensuspensors erkennen. Aus der Embryoachse entstehen die knollentragenden Achsen der Ophrydeen und Spirantheen, die Rhizome mit einfachen Seitenwurzeln der Neottieen und Cypripedieen, endlich die verzweigten wurzelhaartragenden Rhizome von Corallorhiza und Epipogon. Alle diese Pflanzen finden also im jugendlichen Alter ihre Existenzbedingungen unter der Erde, ohne Rücksicht auf ihr späteres Leben als Saprophyten oder Autotrophe. Daß diese Fähigkeit die Autotrophen in hohem Grade von der Konkurrenz anderer Pflanzen, die den Boden in dichter Decke überziehen, unabhängig macht, ist leicht einzusehen. Unter Moosschichten oder im Boden entwickelt der Keimling sein erstes meist langes und schmales Blättchen, das er auch ohne großen Nachteil an dicht bewachsener Stelle über den Boden zu schieben vermag. Sein Lichtbedürfnis ist wie das der erwachsenen Pflanze gering.

Die Gefahren, die den jungen Pflänzchen drohen, sind ebenfalls anderer Art, als bei den Keimlingen der übrigen mit ihnen die Pflanzendecke des Bodens zusammensetzenden Ge-

wächse. Die ganz ungeheure Überproduktion von Samen sagt uns, daß die Bedingungen der Keimung selten günstig sind. Die relative Seltenheit des richtigen die Keimung auslösenden Endophyten mag die Pflanze zur Überproduktion getrieben haben. Die meist so sehr lokal beschränkten Fundorte gewisser Orchideen sind wohl der Ausdruck der für den Pilz an diesen Stellen geeigneten Bedingungen, die ja mit denen der Pflanze coincidieren müssen. Von diesem Gesichtspunkt erklären sich die Gefahren, die durch anhaltende Trockenheit für die Keimung unserer Orchideen hervorgerufen werden können. So sieht man in manchen Jahren die Keimpflanzen gewisser Orchisarten in der Umgebung fast aller erwachsener Exemplare, in anderen sucht man vergebens danach.[1])

3. Rhizomorchideen.

Nehmen wir an, daß die im Stadium der Embryoachse bestehende Lebensweise im späteren Leben beibehalten wird, so erhalten wir den Vegetationsmodus der Saprophyten. So entsteht aus der unterirdischen Keimachse von Neottia, Corallorhiza und Epipogon sofort das wurzeltragende oder wurzellose Rhizom, das die vegetative Pflanze ausmacht, dessen Terminalsproß erst nach Jahren mit einem Blütenstand das Tageslicht, oder besser das Dämmerlicht des Standortes erblickt. Wir tragen kein Bedenken zu behaupten, daß alle Saprophyten verpilzt sind, die einzige von Johow konstatierte Ausnahme Wullschlegelia aphylla wird sich wohl noch eines Tages, wenn auch vielleicht nur als periodisch verpilzt heraus-

---

[1]) Im Juli des Jahres 1908 fand ich bei Jena neben den Mutterpflanzen der dort an den Fundorten sehr häufigen Orchis mascula und O. pallens sehr viele Keimlinge der ersteren und wenige der letzteren. Es ergab sich die bemerkenswerte Tatsache, daß fast alle Pflanzen zweijährig waren, d. h. 1906 gekeimt hatten, in einem Jahre, das sich durch eine durchschnittlich hohe Luftfeuchtigkeit, verbunden mit gleichmäßig hoher Temperatur auszeichnete, Faktoren, die ein so üppiges Pilzwachstum hervorriefen; wir erinnern daran, daß im Jahre 1906 in den Weinbaugegenden die Peronospora viticola die Ernte trotz aller Gegenmittel fast vollständig vernichtete. (Vgl. Lüstner 1907.)

stellen. Der Samen dieser Pflanze besteht nach Johows Abbildung (Jahrb. f. wiss. Bot. XX, Tab. 22, Fig. 23) aus höchstens hundert Zellen. Eine selbständige Keimung ist somit äußerst unwahrscheinlich.

Daß bei den Saprophyten jene Verschiebung der Existenzbedingungen eingetreten ist, die zur Annahme eines mutualistischen Verhältnisses zwischen Pilz und Pflanze berechtigt, ist durch so viele allbekannte Tatsachen belegt, daß wir nur ganz kurz darauf eingehen wollen. Hauptsächlich Johow, Mac Dougal und Groom haben sich mit dem Studium der Saprophyten, darunter zahlreicher Orchideen, beschäftigt; wir wollen versuchen die charakteristischen Eigenschaften der Orchideensaprophyten hier kurz zusammenzustellen.

Wir finden:

1. Gänzliches Fehlen, oder doch nur sehr spärliches Auftreten von Chlorophyll.
2. Geringe Oberfläche des vegetativen Pflanzenkörpers: Fehlen der Laubblätter, Reduktion der unterirdischen Organe.

Johow (Jahrb. f. wiss. Bot. XX, S. 489—491) gibt eine Zusammenstellung über die möglichen Formen der letzteren, von der wir das, was sich auf Orchideensaprophyten bezieht, hier wiederholen wollen. Es haben:

a) eine einfache, ungeteilte Rhizomknolle ohne Wurzeln:

Neottieen. Stereosandra Bl., Gastrodia R. Br., Galera Bl.

b) ein knollig-verzweigtes (Epidendreen) oder knollentragendes Rhizom mit spärlichen Wurzelfasern:

Epidendreen. Hexalectris Rafin., Pachystoma Bl.

Neottieen. Prasophyllum R. Br., (grün?), Caladenia R. Br. spec. (grün?), Leucorchis Bl.

c) ein verzweigtes, „korallenförmiges“ Rhizom oder Wurzelsystem:

Epidendreen. Corallorhiza R. Br. (unsere Arten grün, die amerikanischen weiß).

Neottieen. Epipogon Gmel.

d) ein einfaches oder verzweigtes, gar nicht oder schwach verdicktes Rhizom mit Faserwurzeln:

Neottieen. Lecanorchis Bl. (L. javanica schwach chlorophyllhaltig), Yoania Maxim., Cephalantheraarten (grün?);

e) fleischige, gebüschelte Wurzeln, die einen vogelnest- oder morgensternartigen Komplex bilden:

Neottieen. Galeola Lour., Wullschlegelia, Rchb. F., Neottia L., Spiranthes-Arten, Limodorum L. (die Schuppenblätter z. T. grün), Aphyllorchis Bl.

f) dünnere zu einem dichten Knäuel verwobene Wurzeln:

Neottieen. Pogoniopsis Rchb. F.

Den angeführten Saprophyten fehlen nach Johow die Wurzelhaare mit Ausnahme von Corallorhiza und Epipogon.

3. Starke Reduktion der Leitungsbahnen.
4. Fehlen der Spaltöffnungen (Ausnahmen bilden das Rhizom von Epipogon und Corallorhiza, sowie die grünen Stellen an dem oberirdischen Sproß der letzteren.
5. Die Ausbildung sehr kleiner mit ungegliederten rudimentären Embryonen versehener Samen.
6. Die Verpilzung der unterirdischen Organe.

Diese sämtlichen Anpassungen lassen sich bei biologischer Betrachtung in zwei Reihen spalten: Jede Anpassungsreihe entspricht einem Ersatz für eine Funktion, die der ursprünglich autotrophen Pflanze zukam, und die sie später verlor. Das auffälligste, wenn auch wie wir später sehen werden, sekundäre Moment besteht in dem Fehlen des Chlorophylls. Die Photosynthese ist die verloren gegangene Funktion. Das andere, wie später zu zeigen, primäre Moment drückt sich in einer Anzahl von Organmodifikationen aus, einer Emanzi-

pation von der Form der Vegetationsorgane autotropher Pflanzen. Verloren gegangen ist hier ein Teil der Transpiration. Der Unterschied ist hier demgemäß nur ein gradueller.

Das sekundäre Moment 1 bedingt mit der Fähigkeit, die Kohlenhydrate ohne Photosynthese zu erwerben, die gänzliche Unabhängigkeit der Pflanze vom Licht:

das primäre Moment 2 die teilweise Unabhängigkeit der Pflanze von dem bei den Autotrophen üblichen Modus der Nährsalzaufnahme.

Wir wollen die beiden Anpassungsreihen in ihrer Entwicklung analytisch behandeln.

Von den kohlenhydratheterotrophen zu den kohlenhydratautotrophen, von den chlorophyllfreien zu den grüngefärbten, von den holosaprophytischen zu den hemisaprophytischen Orchideen sind alle Übergänge vertreten. Übergänge lassen sich aber nur da konstatieren, wo die Kollektion eine komplette ist: wir wollen uns daher auf die einheimischen Rhizomorchideen beschränken.

Die Holosaprophyten enthalten z. T. noch wenige Chlorophyllkörper. Bei Neottia nidus avis sind sie z. B. vorhanden. Daß wir uns keines Fehlers schuldig machen, wenn wir Neottia trotzdem für einen echten Saprophyten halten, hat Drude in seiner klassischen Arbeit über die Biologie von Neottia und Monotropa (73) durch exakte physiologische Experimente bewiesen, indem er zeigte, daß die tatsächlich vorhandene Assimilation eine im Verhältnis zu der grüner Orchideen ganz minimale ist. Bei Corallorhiza und Limodorum tritt schon mehr Chlorophyll auf, bei Epipactis microphylla ist die Reduktion der grünlichen Blätter keine so weitgehende, wie bei den vorhergehenden usw. Stellen wir die einheimischen Rhizomorchideen nach dem Grad ihrer Abweichung von dem autotrophen Typus, ihrer Emanzipation von Photosynthese und der Art der Nährsalzaufnahme zusammen, wozu uns für den letzteren Punkt von Stahl aufgefundene Äquivalente ver-

ringerter Transpiration befähigen sollen, so erhalten wir folgende Reihe:

Epipogon aphyllum. Wuchs wie bei den drei nächsten Pflanzen jahrelang unterirdisch; kein Chlorophyll; keine Spaltöffnungen am oberirdischen Teil; fleischiges Rhizom mit Wurzelhaaren und vergänglichen Schuppenblättern; regelmäßig verpilzt.

Corallorhiza innata. Wenig Chlorophyll; Spaltöffnungen an den grünen Stellen; sonst wie voriges.

Neottia nidus avis. Wenig Chlorophyll; keine Spaltöffnungen; Rhizom mit kurzen, haarlosen Wurzeln, Blütensproß mit Schuppenblättern; regelmäßig verpilzt.

Limodorum abortivum. Wenig Chlorophyll: wenige Spaltöffnungen; Rhizom mit kurzen, fleischigen Wurzeln; Blütensproß mit Schuppenblättern. regelmäßig verpilzt.

Epipactis microphylla. Grün, Blätter stark reduziert; Rhizom mit wenigen längeren, aber sehr dicken Wurzeln; regelmäßig verpilzt.

Cephalantheraarten. Grüne, etwas reduzierte Zuckerblätter; Rhizom mit längeren, regelmäßig verpilzten Wurzeln.

Epipactisarten. Grüne Zuckerblätter, manchmal etwas reduziert (E. sessiliflora), aber lange persistierend und bei manchen Arten flüssiges Wasser ausscheidend; Wurzeln wie bei Cephalanthera, aber in geringerem Umfange verpilzt.

Listera ovata. Blätter verhältnismäßig sehr groß; Ausscheidung flüssigen Wassers; wenig verpilzte Wurzeln, dementsprechend wenig wählerisch im Standort.

Cypripedium calceolus. Lange persistierende Stärkeblätter mit Ausscheidung flüssigen Wassers; häufig fast pilzfreie Wurzeln.

Wir sehen also von Epipogon bis Cypripedium eine ständige Zunahme des Chlorophylls oder der assimilierenden Teile. Dieser Zunahme entsprechen die Standorte der ver-

schiedenen Pflanzen. Die ersten vier sind reine Saprophyten, die bei ihnen ausgebildete Chlorophyllmenge reicht nicht annähernd dazu hin, den Bedarf an Kohlenhydraten auf photosynthetischem Wege zu decken. Ihre Standorte sind schattige Wälder, wo die Konkurrenz anderer Pflanzen auf dem Boden fehlt. Epipactis microphylla und fast ebenso E. sessiliflora finden an ähnlichen Stellen geeignete Lebensbedingungen. Einige Arten der Gattung Cephalanthera bedürfen nur wenig mehr von Licht. Von Epipactisarten sieht man E. latifolia und E. palustris häufig bereits in fester Pflanzendecke. Cypripedium und Listera finden sich allenthalben in Gemeinschaft mit anderen Stauden, sie lassen sich leicht in Gärten kultivieren.

Die Befunde an den Pflanzen zusammen mit der Kritik ihrer Fundorte berechtigen uns somit, bei den einzelnen Formen eine graduell gesteigerte Verschiebung in den Existenzbedingungen von der kohlenstoffautotrophen nach der kohlenstoffheterotrophen Seite anzunehmen, für die wir den Pilz verantwortlich machen dürfen.

Die andere Verschiebung in dem Modus der Nährsalzaufnahme findet ihren Ausdruck in der stark verringerten Transpirationsmöglichkeit nach der saphrophytischen Seite zu stehenden, in der weniger stark geschwächten der mehr auf der autotrophen befindlichen Gewächse.

4. Ophrydeen.

Unter den Ophrydeen, einer Gruppe, die wir wegen ihrer ganz spezifischen Anpassungen an die Umgebung im Zusammenhang und allein betrachten wollen, mag wohl um ihrer ausgesprochenen Periodizität willen, die die ganze vegetative Entfaltung der Pflanze auf einen kurzen Zeitraum einengt und in der übrigen langen Zeit nur einige neue Organe aus den vorhandenen Vorräten anlegt, der Saprophytismus nicht aufgetreten sein.[1]) Die echten Saprophyten zeichnen sich durch

[1]) Disaarten, die Johow als Saprophyten erwähnt, scheinen alle Kohlenstoffautotrophe zu sein; sie wurden auch deshalb in Johows Zusammenstellung der Wurzelsysteme der Saprophyten weggelassen.

ein sehr langsames Wachstum ihrer vegetativen Teile aus. Während bei ihnen, wenn der Blütenschaft aus dem Boden getrieben und die Samen gereift, die Pflanze die verlorenen Vorräte während einer oft mehrere Jahre dauernden Periode unterirdisch und unendlich langsam wiedergewinnt, finden wir bei den Ophrydeen beide Funktionen auf denselben Zeitraum vereinigt.

Neben der schnellen Entfaltung des in seinen Teilen schon angelegten Blütensprosses geht einher eine starke Assimilation, die der jungen Knolle die Kohlenhydrate liefert. Das eine Reservoir, die alte Knolle, wird entleert, das andere gefüllt, das die Pflanze im nächsten Frühjahre zu einer fast explosionsartigen Entwicklung befähigt. Dieser Faktor, die rapide Entfaltung einer noch außerdem im Verhältnis zu den Rhizomorchideen ungleich größeren vegetativen Masse, darf für den Kampf um die Existenz nicht unterschätzt werden.

Betrachten wir die typischen Wiesenorchideen, so viele Arten der Gattungen Orchis, Gymnadenia, Ophrys, so ist bei ihnen die frühzeitige Entwicklung assimilierender Organe bei der Raschwüchsigkeit der Umgebung Existenzbedingung. Die sich bei manchen Formen nach dem Boden umbiegenden Blätter sichern der Pflanze den Raum zur freien Entfaltung des Blütenstandes, der vielleicht auch mit Rücksicht auf die ausgeprägte Entomophilie der Blüten zu bestimmter Zeit hervorschießen muß. Die meisten Ophrysarten und Himanthoglossum, wohl Typen südlicher Provenienz, bilden ihre Blattrosette schon im Spätsommer desselben Jahres; sie assimilieren den ganzen Winter bei entsprechender Temperatur. Als Durchbrechung der Periodizität der Ophrydeen darf diese Erscheinung nicht gedeutet werden, denn auch hier erfolgt die Ausbildung des Blütensprosses mit eruptiver Kraft.

Eine Hypothese, wie die Bernard'sche, die statt einer biologischen Betrachtungsweise eine rein physiologische verwendet, die die Verpilzung als direkte Ursache der Knollenbildung und damit der Periodizität auffaßt, das Leben der

Pflanze behaftet denkt mit einer notwendigen Krankheit, „d'une maladie parasitaire chronique" (cf. Recherches expérimentales sur les orchidées) ist hier ungerechtfertigt. Daß die Auffassung der direkten Abhängigkeit der Knollenbildung von der Verpilzung bei rein physiologisch kausaler Betrachtungsweise theoretisch möglich, einer biologischen, wie unserer, die die Existenz der Periodizität aus dem Bedürfnis verstehen will, nicht zu widersprechen braucht, ist selbstverständlich; daß aber eine Kreuzung beider Methoden das sonderbare Produkt einer „maladie bienfaisante", oder wie es an anderer Stelle heißt „maladie bénigne" erzeugen muß, ist ebenso klar, denn der durch das Wort maladie ausgedrückte Zustand bestimmt eine Negation des normalen und ist physiologischer Natur. Da diese Negation aber dem Leben der Pflanze ein Ziel setzen müßte, wird sie durch Hinzusetzung der rein teleologischen und biologischen Bestimmung „bénigne" wieder abgeschwächt.

Wir kehren zu unserer Aufgabe zurück. Es galt zu zeigen, daß sich die Ophrydeen in ihren Existenzbedingungen spezifisch von autotrophen Pflanzen unterscheiden.

Von einer Reduktion der assimilierenden Fläche ist bei den Ophrydeen nichts zu bemerken. Einheimische wie exotische Formen zeichnen sich durch große, intensiv grüne, zugleich mit dem Blütensproß hervorwachsende Blätter aus; ist nur ein einziges vorhanden, ist es von besonders großer Gestalt. Die Oberfläche der unterirdischen Organe muß man im Vergleich dazu eine geringe nennen; besonders die Gattungen Ophrys, Platanthera, Habenaria, besitzen nur wenige dicke, kurze Wurzeln; die Gattung Orchis ist ein wenig besser bewurzelt, dies entspricht aber den stärker entwickelten oberirdischen Teilen. Die Wurzeln wachsen horizontal in das Substrat, und verweilen deshalb im Humus, die Knollen liegen sehr häufig unter der Humusschicht im festen Boden, bei manchen tropischen Formen auch auf der Oberfläche, sie sind also an der Aufnahme des Wassers nur in beschränktem Maße beteiligt. Das somit ganz auffallende Mißverhältnis zwischen

grünen und farblosen Teilen der Pflanzen findet seine Erklärung durch die biologische Betrachtungsweise, die Stahl gerade bei den Ophrydeen mit so schönem Erfolg anwandte: Das Fehlen flüssiger Wasserausscheidung, die durchgängige Sacharophyllie (mit Ausnahme des Herminium monorchis), der hohe, zu starker Erwärmung und damit zu starker Transpiration entgegenwirkende Blattglanz selbst der hygrophilen Arten, das Vorkommen einer nur geringen Menge von Kalkoxalat, (noch dazu in Raphidenform, die das Vorhandensein als Anpassung gegen Tierfraß rechtfertigt) und das autotrophen Pflanzen gegenüber so geringe Trockengewicht, alles erschienen Merkmale einer sehr verringerten Wasserdurchströmung. Die Pflanze mußte in anderem Ersatz gefunden haben für die verminderte Zufuhr der Nährsalze. Stahl suchte und fand den Ersatz in der hier regelmäßig und ausgeprägt auftretenden Verpilzung der Wurzeln. Eine neu erworbene Eigenschaft mußte aber der Pflanze Vorteile im Kampf ums Dasein geboten haben. Stahl sah sie in der Art der Standorte der mycotrophen Pflanzen. In Übereinstimmung mit ihrem xerophilen Charakter finden wir die Ophrydeen an Örtlichkeiten, an denen Wassermangel herrscht und die gewöhnliche Art wahlloser Aufnahme der Nährsalze erschwert ist. Viele Arten bewohnen trockene Kalkhügel, sie finden sich dort an Stellen, die keine zusammenhängende Pflanzendecke mehr aufkommen lassen, ihr Kampf ist gegen die Ungunst der Elemente gerichtet. Die neben ihnen vorkommenden Gewächse sichern sich ihr Wasser durch ein weitverzweigtes und tiefgehendes Wurzelsystem oder haben sich ebenfalls mit den Bodenpilzen zur Mycorrhiza vereinigt und damit wie diese die Möglichkeit erworben, mit dem Morgentau lange Zeit auszukommen. Die andere Reihe der Wiesen und Wälder bewohnenden Ophrydeen hat Feuchtigkeit zur Genüge zur Verfügung, doch enthält dieses Wasser nur einen Teil der Nährsalzmenge des Wassers auf sterilem oder drainiertem Boden. Freilich wird durch die Fäulnis organisierter

Stoffe eine Menge von Salzen frei, doch wollen Tausende von Gewächsen am Standort davon leben. Die Pilze sind bei dem entstehenden Kampfe, dem „Kampf um die Nährsalze" Stahls weitaus im Vorteil. Sie vermögen die Abbaustoffe des Organischen zu verwerten, ehe noch Bakterien diese zerlegt und für die höhere Pflanze verdaulich gemacht haben. Die Aufnahme der Salze bleibt somit, wenn auch aus anderem Grunde, wie auf trockenem Boden, auch im Waldeshumus und auf der Wiese mit Schwierigkeiten verknüpft. Ist es denn wirklich wunderbar, wenn fast dieselben Anpassungen, wie wir sie auf trockenem Boden finden, ausgedehntes Wurzelsystem und starke Transpiration auf der einen und Verpilzung auf der andern Seite hier wiederkehren?

Gehören unsere terrestrischen Orchideen in gewisser Beziehung schon dem xerophilen Typus an, so ist dies noch vielmehr bei den Epiphyten der heißen Zone der Fall.

5. Epiphyten.

Wir haben die Keimpflanzen der epiphytischen Orchideen aus der Reihe der saphrophytischen ausgeschlossen, weil sich bei ihnen im Anfang des manchmal ohne Mitwirkung des Pilzes entstehenden Keimungsstadiums das Chlorophyll ausbildet. Die Entstehung der epiphytischen Formen aus den terrestrischen wird allgemein angenommen. Ein Hindernis liegt in dem Vorhandensein autotropher Anfangsstadien hierfür nicht, denn die saphrophytische Lebensweise kann unter Ausschluß des Lichtes mit Hilfe des Pilzes eine Zeit lang, bei Laelia bis zur Bildung des zweiten Blattes vor sich gehen, wie unsere Experimente im Speziellen Teil gezeigt haben. Ein prinzipieller Unterschied ist somit bei der Keimung der terrestrischen und der epiphytischen Orchideen nicht vorhanden. Die Eigenschaft zeitigeren Ergrünens mag sich bei den Epiphyten als nützlich erwiesen haben, sie entspricht ihrer Keimweise an der Oberfläche des Substrates. Die sich nach der

Infektion rasch entwickelnden Keimpflänzchen sind mit noch einigen anderen augenscheinlichen Anpassungen an ihre Lebensweise ausgestattet. Sie gedeihen in der Kultur an der meist trockenen Wand der Röhre, wie auch Bernard bei seinen Cattleyakeimlingen beobachtete; freilich langsamer, als auf dem Substrat, denn sie können ihre Nährsalze nur gelegentlich, wenn die Glaswand mit Kondenswasser beschlagen ist, auf dem Wege der Diffusion, oder vielleicht durch Vermittlung der sie mit dem Substrat verbindenden Pilze erhalten. Die Anheftungsweise der Cattleyapflänzchen, die sich mit ihren am Ende verzweigten Wurzelhaaren regelrecht auf der glatten Fläche verankern, lassen ihre Epiphytennatur nicht verkennen.

Wir konstatieren also bei der Keimungsgeschichte der epiphytischen Orchideen Unterschiede von der der terrestrischen. Diesen ermöglichte die Mycotrophie, unter der Erde zu leben; können wir ähnliche Gründe finden, die jenen gestatten, über sie hinaus in die Kronen der Bäume zu steigen?

Zum ersten ist hier der Bau der Samen von Bedeutung. Ihre schon bei den terrestrischen Formen aufgetretene Feinheit und Leichtigkeit gab die Möglichkeit der Windverbreitung und damit die erste und wichtigste Bedingung epiphytischen Lebens. Diese durch die Selektion noch verstärkten Eigenschaften, die wir jetzt an dem staubförmigen, nur 0,00000365 g wiegenden Samen[1]) eines Dendrobium bewundern, konnten aber nur entstehen, weil der Pilz dem Samen einen Ersatz bot für das Endosperm oder den Cotyledo, den andere zur Ernährung im ersten Jugendstadium benötigten.

So wurde im Grunde die mycotrophe Keimung des Samens zur Ursache der Entstehung des formenreichen Orchideenflors auf den Bäumen der tropischen Wälder, der uns heute staunen macht.

Die für die Feststellung der Symbiose notwendige Verschiebung im Standort, also hier der Epiphytismus, ist somit vorhanden; die Symbiose findet allein durch das Bedürfnis des

[1]) Pfitzer (82), zit. S. 165.

keimenden Samens ihre Erklärung. Selbst wenn der Pilz als Kommensuale oder als wenig schädlicher Parasit die erwachsene Pflanze durchs Leben geleitete, wäre ihr Vorhandensein gesichert. Eine schwierige Frage sei nun gestellt: Hat die Mycorrhiza den Pflanzen nur die Grenzen eines neuen Gebietes erschlossen, oder erhält sie sie auch unter den Bedingungen dieses Gebietes?

Es ist uns noch nicht gegeben, sie zu beantworten, wenigstens nicht im Rahmen der Fragestellung dieses Kapitels; denn wir müßten Bescheid wissen mit den Graden der Verpilzung epiphytischer Orchideen und anderer Epiphyten am Standorte, um Unterschied oder Übereinstimmung festzustellen. Dies ist bei dem Umfang der Aufgabe und der sehr geringen Menge vorliegenden Materials unmöglich. Es bleiben uns nur die aus physiologischen und anatomischen Tatsachen der vorigen Kapitel gezogenen Beweise nebst dem Gedanken der Wahrscheinlichkeit einer analogen Bedeutung der Mycorrhiza bei allen Orchideen.

E. Versuche zur Erklärung des biologischen Verhältnisses zwischen Orchidee und Pilz.

Statt der historischen Entwicklung der Mycorrhizafrage zu folgen, um am Ende unsere Ansicht, sie als notwendiges Ergebnis neuer Forschung und alter Erkenntnis betrachtend, als ein neues Glied in der Reihe anzuknüpfen, wollen wir, weil der genannte Modus schon so häufig in den Arbeiten über die Frage aufgetreten ist, hier soweit als möglich davon absehen. In Gallauds schönen Studien (05) findet man eine genaue, scharf disponierte und kompendiöse Übersicht über den Kampf ums Dasein der verschiedenen Hypothesen. Wir haben die Überzeugung gewonnen, daß dieser Kampf, so segensreich er für den Fortschritt war, einer mehr versöhnlichen Stimmung der einzelnen Ansichten weichen muß; wir hoffen zum Besten

der Wahrheit, die gegenseitig auf ihren Schwächen parasitierenden Ansichten soweit als möglich zu einer mutualistischen Symbiose zu vereinigen.

1. Die Frage nach dem Vorhandensein einer mutualistischen Symbiose.

Eine Grundtatsache ist uns seit einigen Jahren bekannt: Die Unmöglichkeit der Samenkeimung ohne Mitwirkung des Wurzelpilzes. Die Keimungsexperimente Bernards zeigen uns, daß Infektion eintreten muß, sei es im gequollenen Samen oder im gegliederten Pflänzchen, wenn sich der Organismus weiter entwickeln soll.

Alle Orchideensamen sind mit wenigen Ausnahmen acotyl. Jene Ausnahmen, die noch einen Cotyledo führen, wie Bletilla hyacinthina und Sobralia macrantha, sind hygrophile Spezies und deshalb weniger mycotroph, und doch verhält es sich mit der Infektion, wenigstens bei Bletilla, wie bei den anderen. Ob es überhaupt noch eine selbständig entwicklungsfähige Orchidee gibt, wissen wir nicht.[1]) Die Existenz der Pflanze ist also unmittelbar an die des Pilzes gebunden. Es liegt daher sehr nahe, wie Bernard tut, die Pflanze vom Pilz unterjocht zu denken. Es scheint noch für diese Auffassung zu sprechen, daß die Entstehung einer solchen Symbiose nur über den Weg des Parasitismus denkbar ist.

Stellen wir uns einmal die Stammform der Orchideen vor. Die Eigenschaften, die sich durch das Regiment des Pilzes erklären lassen, darunter acotyle Samen, Epiphytismus (nach Bernard sogar die Knollenbildung), das Vorkommen von nährsalzarmen Standorten, so erhalten wir eine hygrophile Form mit langen dünnen Scheidenblättern, ein Bild, wie es uns heute noch die schilfähnlichen Bestände der Sobralien bieten mögen. Wie vermochte sie aber, eine derartige Umwandlung zu erleiden, daß die Formen entstanden, die wir heute kennen?

[1]) Platyclinis glumacea Benth. wäre zu untersuchen; ihr Same enthält nach Pfitzner (89) einen mit Cotyledo versehenen grünen Embryo.

Ein Vertreter der Bernard'schen Auffassung würde etwa antworten: Über die Stammpflanzen kam eine große Not. Parasitische Pilze griffen ihre Wurzeln an; nur mit Mühe und unter Aufgabe vieler Eigenschaften, unter Annahme vieler neuer, vermochten die Pflanzen bei den nun eintretenden Anomalien, wie der Knollenbildung, ihr Leben zu erhalten. Die Krankheit unterschied sich jedoch von anderen beträchtlich; der Pilz, seinerseits angewiesen auf seinen Wirt, machte ihr die selbständige Existenz überhaupt unmöglich; er wußte sie im jüngsten Stadium an sich zu fesseln und sicherte sich so seine Verbreitung auf alle Individuen. Es trat eine „maladie parasitaire chronique" ein . . . die die Orchideen befähigte, die Erde zu erobern, an Orten zu gedeihen, wo die Konkurrenz anderer Gewächse sie nicht zugelassen, wo Wassermangel sie gefährdet, trockene Winde sie vernichtet und vor allem dort, wo periodischer Klimawechsel ihnen früher das Leben versagt hatte. Ihre armselig ausgebildeten Samen, die der nur selten günstigen Keimungsbedingungen wegen in ungeheurer Zahl ausgebildet werden mußten, blies der Wind in der Gegend herum, sie gelangten auf Bäume und Felsen, entgingen aber auch hier nicht ihrem grausamen und doch geliebten Verfolger, dem Wurzelpilz. Es entwickelte sich eine Gruppe von einzig dastehendem Reichtum in Form und Farbe ihrer Vegetationsorgane und Blüten. Besonders die letzteren erhielten im Kampf ums Dasein die sinnreichsten Konstruktionen, wie wir sie kaum bei einer anderen Familie wiederfinden. Und der Zauberer, der dies alles bewirkte, wer war er? Eine kleine unscheinbare Pilzgruppe, sogar ein Fungus imperfectus.

Wir sind der Ansicht, daß der Entwicklungsgang der Orchideen wirklich einen ähnlichen Verlauf nahm, nur möchten wir statt von einer „maladie bienfaisante" von einem glücklichen Zusammentreffen verschiedener Umstände bei den Orchideen geredet haben.

Gegen die Auffassung Bernards sprechen auch die physiologischen Befunde und zwar alle die, welche wir gemäß

unserer allgemeinen Ausführungen als Regulationen des Parasitismus bezeichnen können. Hierher sind alle die Eigenschaften des Pilzes zu rechnen, die ihn von einem fakultativ kteinotrophen Parasiten unterscheiden, aus denen sich die Harmlosigkeit des Pilzes erklären läßt, die allen Untersuchern der Orchideenmycorrhiza aufgefallen ist, und die sich, in der enzymatischen Qualität des Pilzes begründet, einmal durch den Vergleich mit den toxischen Eigenschaften der Parasiten wird genauer definieren lassen. Von der anderen Seite gesehen, erhellt dies auch aus der sehr wahrscheinlich weitgehenden Fähigkeit der Pflanze, einen ungeeigneten Wurzelpilz, dem sie den Eintritt nicht verweigern kann, abzutöten, wie wir es bei den Keimungsversuchen der Laelia-Samen zu zeigen versuchten und es die auch im Freien häufig vorkommende temporäre Abtötung des gesamten Myceliums in der Pflanze beweist (cf. Magnus S. 23); (Stahl, S. 541). Weiter ließen sich alle Anpassungen der Pflanze an die Verpilzung hier erwähnen, so in erster Linie Bau und Funktion der Durchlaßzellen des Embryo, die in Beziehung zur Verpilzung stehenden schon im Meristem auftretenden Modifikationen des Pflanzengewebes, und anderes.

Frank kommt (91) in Unkenntnis der späteren Bernardschen Resultate von der Notwendigkeit des Pilzes zur Samenkeimung zu dem umgekehrten Standpunkt, die endotrophe Mycorrhiza der Orchideen für eine der Insektivorie direkt vergleichbare Anpassung der Pflanze zu halten. Die Wurzeln der selbständigen Orchidee fungieren als Pilzfallen, indem sie die hinein gelockten Mycelien verdauen, wobei ihre Bestandteile der Pflanze anheim fallen. Der Pilz degeneriert unter der Wirkung des Pflanzenplasmas, so daß er „nicht mehr im Stande ist, aus einem Schnitt in feuchter Kammer auszuwachsen“ und daß er „für sich selbst und seine Spezies verloren, nur noch als künftiges Opfer seines Wirtes unfreiwillig sich weiter entwickelt“. Die Fähigkeit der Reproduktion, die dem Pilze oder seinen Emissionshyphen durch die Kohlenhydrate

der Pflanze sogar noch gewährleistet wird, wie die in den Wurzelhaaren bei vielen Formen auftretenden Sporen beweisen, schließt diese andere Grenzauffassung selbst bei der gelegentlich ganz selbständigen erwachsenen Pflanze aus.

Negieren wir die Autokratie des Pilzes und ebenso die der Pflanze, so sind wir gezwungen, ein regelmäßiges beiderseits durch Anpassungen dokumentiertes symbiotisches Verhältnis anzunehmen. Die Anforderungen, die eine solche mutualistische Symbiose an Pflanze und Pilz stellt, wollen wir näher definieren. Jeder der beiden Komponenten muß eine gesteigerte Reproduktionskraft in der Symbiose im Verhältnis zu der außer derselben besitzen, und zwar an demselben Standort, auf dem die Vereinigung beider gedieh.

Daß die Orchidee die Fähigkeit ihrer Reproduktion mit der ihres Gedeihens am Standort dem Pilze verdankt, beweisen außer der Unmöglichkeit ihrer selbständigen Existenz in Beziehung auf die Keimweise die Befunde Stahls über ihr biologisches Verhalten zu anderen autotrophen Gewächsen, insbesondere über ihre eigenartige Wasserökonomie.

Daß der Pilz die für ihn schwerer aus dem Substrat erhältlichen Stoffe von der Pflanze bezieht und somit befähigt wird, seine Fruktifikationsorgane zu bilden, geht aus dem Vorkommen dieser in den absorbierenden Haaren hervor. Ohne die Pflanze kommt der Pilz auf Humus oder sterilem Kalkboden nicht zur Fortpflanzung. Sterilisiert man freilich beide Böden, so treten die Sporenketten des Pilzes auf. Die Aufschließung organischer und mineralischer Bodenbestandteile einerseits, das Fehlen konkurrierender Mikroorganismen andererseits gewähren ihm ein günstiges Substrat zur Fruktifikation. Natürlich läßt sich trotzdem denken, daß der Pilz im Freien unter gewissen Umständen auf besonders günstigem Substrat sich selbständig reproduziert. Jedenfalls macht ihm seine harmlose Art die Selbsterhaltung schwer, mangelt es ihm doch, soweit wir jetzt wissen, an zellulose

spaltenden Enzymen, die wohl nur wenigen humöse Substanzen zersetzenden Pilzen fehlen dürften. Das Leben in der Pflanze sichert ihm einen uneinnehmbaren Standort mit der Gelegenheit regelmäßiger Reproduktion.

Dies sind kurz die elementaren Gründe biologischer Art, die uns bestimmen, für das Verhältnis zu ihrem Wurzelpilz den früher definierten Ausdruck Symbiose in Anspruch zu nehmen.

2. Die stofflichen Beziehungen zwischen den Komponenten.

Diese Frage, deren Lösung die Forscher von Anfang an am meisten interessierte, ist heute nach soviel Arbeit über den Gegenstand noch immer keine entschiedene. Es gibt wohl kaum eine Möglichkeit der Lösung, die nicht schon versucht wurde. Man glaubt an die Bedeutung des Pilzes für die Absorption der Nährsalze, des Stickstoffs, eines Teils oder aller Kohlenhydrate aus den Bestandteilen des Bodens, die Umwandlung dieser Substanzen in solche, die von der Pflanze direkt verwertet werden können. Man traut dem Pilz das Vermögen der direkten Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs zu, läßt ihn den in organischer Form dem Substrat entnommenen Stickstoff oxydieren und als Nitrat an die Pflanze abgeben, man hält den Endophyten endlich für einen unschädlichen Kommensualen.

Ehe wir näher auf diese Ansichten eingehen, wollen wir uns klar machen, um welche Stoffe es sich für die Pflanze überhaupt handeln kann.

Grüne Pflanzen können gedeihen mit Wasser, den Mineralsalzen und den aus der Assimilation des Chlorophylls gewonnenen Kohlenhydraten. Die meisten Orchideen sind befähigt, als Keimpflanzen holosaprophytisch zu leben, d. h. alle Stoffe, auch die Kohlenhydrate aus dem Boden direkt zu beziehen. Für die einheimischen terrestrischen Orchideen gilt dies als Regel, ebenfalls für die terrestrischen Exoten, soweit

bekannt. Die an die Keimung im Licht gewöhnten Epiphyten können, wie uns ein Experiment mit den anfangs recht selbständigen Keimlingen der Laelio-Cattleya bewies, sehr wohl im Dunkeln ihre ersten Stadien nach der Infektion absolvieren. Ausgeschlossen dürfte eine fakultativ saprophytische Keimungsweise höchstens bei den mit Cotyledo versehenen Samen der hygrophilen Formen sein. Untersuchungen liegen darüber nicht vor.

Holosaprophytischen Pflanzen bietet der Erdboden anscheinend alles nötige zur Nahrung: Wasser, Salze und Kohlenhydrate. Sie unterscheiden sich also von den Autotrophen lediglich durch die eingestellte Photosynthese. Die Aufnahme organischer Stoffe durch die Pflanze, eine früher allgemein gültige Ansicht, ist durch viele exakte Untersuchungen, zuerst durch Liebig bekämpft und in ihrer Allgemeinheit gänzlich besiegt worden. Neuerdings hat man für eine Reihe von relativ einfachen organischen Verbindungen die Möglichkeit der Aufnahme nachgewiesen. Die in humösem Boden, dem Standort der Saprophyten, auftretenden Stoffe sind, das kann man wohl trotz unserer großen Unkenntnis ihrer chemischen Struktur behaupten, keine solchen einfachen Verbindungen. Nun erscheint aber als steter Begleiter holosaprophytischer Gewächse ein Organismus, den wir selbst als von ausschließlich saprophytischer Lebensweise kennen, und der gerade befähigt ist, jene komplizierten Stoffe zu lösen und zu assimilieren. Nichts liegt somit näher, als ihn für die abnormen Fähigkeiten der Pflanze verantwortlich zu machen. Johows angeblich pilzfreie Wullschlegelia aphylla kann uns als einzige Ausnahme hieran nicht beirren.

Wir postulieren also einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Aufnahme der Kohlenstoffverbindungen und der Verpilzung.

Bei der Betrachtung der anderweitigen Qualitäten des Pilzsymbionten kommt uns besonders bei den Humus bewohnenden Orchideen der Gedanke, daß auch eine direkte

Stickstoffernährung der Pflanze vom Pilze vermittelt sein könne. Belegt wird diese Ansicht durch die anatomischen Befunde an der Mycorrhiza. Ein Postulat kann sie allerdings nicht bilden. Denn der Stickstoff kann auch in Form von Salzen assimiliert werden.

Der direkten Absorption der Nährsalze scheint zunächst nichts im Wege zu stehen; die Pflanze hat absorbierende Organe im Boden, sie vermag mit dem Wasser gelöste Stoffe aufzunehmen.

Sicher scheint somit bei oberflächlicher Betrachtung für die Pflanze die Vermittlung des Pilzes bei der Assimilation der Kohlenhydrate, möglich bei der des Stickstoffes, unnötig bei der der Nährsalze. Ein ganz anderes Bild ergibt sich aber bei der biologischen Deutung der morphologischen und anatomischen Einzelheiten. Am besten begründet erweist sich uns die Aufnahme der Nährsalze durch Vermittlung des Pilzes, weniger wahrscheinlich die organischer Stickstoffverbindungen, außer jenem Postulat fast nicht belegt die der Kohlenhydrate. Die erste Funktion des Wurzelpilzes läßt sich bei allen, auch den grünen Orchideen nachweisen, die beiden anderen sind nur bei den chlorophyllarmen Formen sicher.

a) Die Aufnahme der Nährsalze.

Die Ansicht von der Bedeutung der Mycorrhiza für die Aufnahme der Nährsalze ist die älteste von allen. Pfeffer (77) hatte schon auf die Möglichkeit hingewiesen, die Pilzhyphen als Ersatz der Wurzelhaare zu deuten. Frank (85—88) baute seine ausgedehnte Hypothese zunächst ebenfalls darauf auf, daß ekto- und endotrophe Mycorrhiza der Pflanze die Nährsalze liefern sollten. Über die Verhältnisse bei den Orchideen sagt er (87, S. 407): „Die Orientierung der pilzführenden Zellen in der Wurzel ist stets eine solche, daß sie notwendig die Vermittlung zwischen den aufzunehmenden Stoffen und den Leitungsbahnen übernehmen müssen." Später (von 91 an) kommt Frank von dieser Anschauung im wesent-

lichen ab, da sein Interesse sich mehr auf die Frage der Aufnahme der organischen Substanzen durch den Wurzelpilz konzentriert. Auch in den von Franks Schriften angeregten Untersuchungen anderer Forscher schien die Bedeutung der Mycorrhiza für letztere Frage die wichtigste.

Da erschien im Jahre 1900 eine Arbeit Stahls, die gerade von dem Gesichtspunkte der Bedeutung der Verpilzung für die Aufnahme der Nährsalze die Aufgabe unternahm, durch Vergleich autotropher und mycotropher Gewächse in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften und ihren Standorten die Mycorrhiza biologisch zu deuten.

Zugleich wurde in dieser Arbeit festgestellt, daß die Verbreitung der Mycorrhiza eine ungeahnt große, mehr als die Hälfte der einheimischen Pflanzen umfassende war.

Unter den Monocotylen kamen gerade die Vertreter der Familie der Orchideen dem Stahl'schen Typus der mycotrophen Pflanze am nächsten: Es fehlte den untersuchten Orchideen die Ausscheidung flüssigen Wassers, mit Ausnahme der weniger mycotrophen Gattungen Epipactis, Listera und Cypripedium. Durchgängige Sacharophyllie erscheint als Vorrichtung gegen eine zu starke Wasserabgabe. Bei den stark mycotrophen Formen besitzen selbst die im feuchten Walde wachsenden einen ausgeprägten Blattglanz, der einer zu starken Erwärmung der Blätter und dadurch einer stärkeren Transpiration vorbeugt. Der reduzierten Transpiration entspricht der relativ geringe Aschengehalt der Pflanzen und das Fehlen des bei Autotrophen mit ausgiebiger Wasserdurchströmung vorhandenen Kalkoxalats in Kristallform. Stahl schließt: „Es besteht also bei den Orchideen . . . ein unverkennbarer Zusammenhang zwischen Wurzelverpilzung und Transpiration, so daß wir schon jetzt (d. h. nach dem Kapitel über die Wasserökonomie der Orchideen) den allerdings noch weiter zu erhärtenden Satz aufstellen können, daß der mit der Gefäßpflanze in Symbiose lebende Pilz dieser einen Ersatz für die zu spärliche Transpiration bietet.

Die von größeren Wassermengen durchzogenen Orchideen bedürfen dieser Beihilfe nicht, oder doch nur in geringerem Grade, da sie mit dem Transpirationswasser die notwendige Menge von Nährsalzen selbständig zu erwerben vermögen."

Drücken wir Stahls Folgerung etwas anders aus, so erhalten wir als Funktion des Wurzelpilzes folgendes: Der Pilz vermittelt der Pflanze die Nährsalze in der notwendigen Qualität und Quantität, doch an weniger Wasser gebunden, als im Leitungsstrome der autotrophen Pflanze. Die Orchidee vermag daher jetzt an Stellen zu gedeihen, an denen die Existenz jener hypothetischen, autotrophen und hygrophilen Stammform der mangelnden Nährsalze wegen unmöglich wäre. Sie hat in Gemeinschaft mit dem Wurzelpilz einen ihr früher verschlossenen Standort erobert, und ist unter neuen Bedingungen in den Kampf ums Dasein eingetreten. Ihre Entfernung vom autotrophen Typus, die sich dokumentiert durch das Fehlen flüssiger Wasserausscheidung, die Zuckerblätter, die Reduktion der absorbierenden Organe und der Leitungsbahnen, den geringen Gehalt an Oxalat und Asche sind dabei zu deuten als einfacherer, billigerer und natürlich ebenso zweckentsprechender Ersatz für die komplizierteren und kostspieligeren Anpassungen der autotrophen Pflanze zum Erwerb der Nährsalze wie: Organe zur Ausscheidung flüssigen Wassers, Speicherung von Stärke zur Verringerung des Turgors und damit zur Erhöhung der Transpiration, ausgedehntes Wurzelsystem zur Absorption, umfangreiche Leitungsbahnen, weniger vorteilhafte Form der Aufnahme gelöster Stoffe, daher Anhäufung des unbrauchbaren oxalsauren Kalks, für den Abfuhrwege angelegt, oder Behälter geschaffen werden müssen. Daß sich außerdem noch spezifisch xerophytische Anpassungen gelegentlich an der Orchidee finden, wie der Blattglanz, erklärt sich aus der am Standort jedenfalls häufig erschwerten Aufnahme des flüssigen Wassers als solchen.

Weiter kann nach Stahl die Aufnahme der Nährsalze an

den Standorten mycotropher Pflanzen erschwert werden, einmal durch die Trockenheit des nur periodisch oder unregelmäßig durchfeuchteten Bodens nicht in Kultur genommener Triften, zum anderen auf feuchteren und feuchten Humusböden, durch die mit dem Feuchtigkeitsgehalt wachsende Intensität der Konkurrenz der Pilze mit den höheren Pflanzen. Die Pilze mit ihrer ausgeprägten Fähigkeit, noch sehr geringe Salzmengen chemotropisch wahrzunehmen und aufzusuchen, lassen besonders im Waldhumus das Wachstum nicht mycotropher Pflanzen nur zu, wenn diese über ein ganz besonders ausgedehntes Wurzelsystem verfügen.

Gerade bei den einheimischen Orchideen scheinen uns diese beiden in einander übergehenden Arten des Kampfes um die Existenz sehr deutlich. Die Arten auf trockenen Triften und relativ sterilem Kalkboden haben zum Feind mehr die Ungunst der Elemente selbst. Die Konkurrenz mit höheren Pflanzen ist weniger stark; die auf wasserreichen Wiesen und in dem feuchten Humus der Wälder vorkommenden Formen entgehen der Bedrängnis durch klimatische und geognostische Faktoren und verfallen dafür in weit höherem Grade dem „Kampf um die Nährsalze“ mit anderen Gewächsen.

Für die Absorption der Nährsalze im einzelnen Falle erscheint uns das nur in seinen Endigungen bekannte, die Wurzel der Pflanze umgebende Pilznetz von Wichtigkeit. Die Hyphen liegen allerorten den kleinsten Bodenpartikeln innig an; bei trockenem Substrat sind sie in sehr viel höherem Grade geeignet, kleinste adhärierende Wassermassen dem Boden zu entziehen, wie die dicken Wurzelhaare der Pflanze. Diese Bedeutung des Pilznetzes wirft Licht auf die von Stahl erwähnte Wahrscheinlichkeit, daß die Orchideen trockener Lokalitäten auf die Ausnützung des Taues angewiesen sind.

Die Frage der zureichenden Leitungsfähigkeit von Flüssigkeiten und gelösten Stoffen durch die Pilzhyphen in die Pflanze muß im Hinblick auf den in den Kulturen stattfindenden Transport von Baustoffen zur Sporenbildung an den

Deckel der Kulturschale und ebenso auf die stattfindende Versorgung der in den Röhren epiphytisch am Glase wachsenden Laelio-Cattleya-Pflänzchen — die Diffusion durch das meist in unzusammenhängenden Tropfen an der Wand klebende Kondenswasser dürfte eine erschwerte sein — bejaht werden.

Woher stammt der Pflanze aber die Kraft, den Pilz zur Abgabe des ihr Leben ermöglichenden Tranks zu zwingen? Man könnte versucht sein, auf die dem Pilz beim Verdauungsakt vom Pflanzenplasma entrissenen Stoffe hinzuweisen, wie es viele Autoren taten, und wogegen sich kein Widerspruch erheben läßt. Doch lassen sich noch andere Möglichkeiten daneben denken, die uns sehr willkommen sind, weil uns die erstere Erklärung nicht genügend scheint. Die Verhältnisse müssen natürlich da am einfachsten liegen, wo wir mit einem geringen Komplex von Pflanzenzellen und einem leicht in seiner ganzen Ausdehnung zu übersehenden Pilzmycel zu tun haben. Beide Anforderungen sind nun in den eben infizierten Keimpflanzen der Orchideen gegeben. Was geschieht, wenn der Pilz in die Zellen des Embryo eindringt? Woher kommt dem Pilz jene geheimnisvolle das Wachstum auslösende und erhaltende Kraft? Bernard (04a) hat die Frage zu beantworten gesucht:

Er geht von den Vorgängen bei der Infektion aus. Der Pilz dringt in die unteren Zellen des Embryo ein, und es nehmen alle Zellen des Keimlings an Größe zu, besonders die den infizierten Zellen benachbarten. Die einzelne Zelle kann ihr Volum verzehn-, ja verzwanzigfachen. Der Embryo wächst in wenigen Tagen zur embryonären Knolle aus. Welche Fähigkeit des Pilzes vermag nun solches zu leisten? Die Vorbedingung der Bildung von Knollen liegt in einer hohen Konzentration des Zellsaftes begründet. In einer Arbeit über die „conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux" (02b) hat Bernard die Knollenbildung untersucht. Bereits Laurent (88) hatte durch Einstellen abgeschnittener Kartoffelzweige in eine Zuckerlösung bestimmter Konzentration die

Ausbildung von Knollen an den Achselknospen erreicht. Bernard experimentiert ebenso, nur verwendet er außer Glukoselösungen auch solche von Mineralsalzen, speziell Chlorkalium. Er findet für jeden Stoff eine untere und eine obere Grenze der Konzentration, zwischen welchen allein die Knollenbildung vor sich geht. Er erhält in dieser Weise vier Lösungen, von denen die beiden weniger und die beiden höher konzentrierten fast genau die gleichen Gefrierpunktserniedrigungen zeigen. Es handelt sich also auch um äquimolekulare und isosmotische Lösungen. Die Knollenbildung bei der Kartoffel scheint somit allein gebunden an die osmotische Aktivität des Zellsaftes, also an eine physikalische Eigenschaft der Lösung und nicht an die chemische Qualität des gelösten Stoffes. Dieser Ansicht entsprechen auch die Befunde Voechtings (02) über die beim Austrocknen eintretende Knollenbildung der Kartoffel.

Seinen Satz dehnt Bernard auf alle Arten von Knollenbildung aus, also auch auf die Keimknollen der Orchideen. Die Wirksamkeit des Pilzes besteht in seiner Fähigkeit, in den Embryo der Pflanze eine hoch konzentrierte Lösung hineinzuschaffen, die eine Wasseraufnahme von außen im Gefolge haben muß und so die gewaltige Vergrößerung aller Zellen des Embryo bedingt: „L'endophyte agit sur la plante en la rendante capable d'absorber l'eau."

Bei diesem Vorgange sind die sich hauptsächlich vergrößernden Zellen nicht die infizierten, sondern die ihnen benachbarten. Die Wasseraufnahme soll nun nach Bernard nicht durch den Pilz, sondern durch die Pflanze selbst erfolgen: „L'endophyte ne remplace pas les poils absorbants, mais il les fait pousser; les cellules du corps quil rend capables d'absorbtion et de croissance sont justement les cellules qu'il n'atteint pas." Die klassische Hypothese des Ersatzes der Wurzelhaare durch den Pilz sei also nicht in direkter Form zu verstehen, sondern es liege ein komplizierterer Mechanismus vor.

Ehe wir die Berechtigung dieser Folgerungen kritisch prüfen, wollen wir einmal versuchen, im Gedankengange fortzufahren. Wie läßt sich denn das Phänomen erklären, daß der Pilz eine konzentriertere Lösung in die Pflanze hineinschafft? Was geschieht überhaupt, wenn der Pilz in eine Zelle eindringt? Bernard gibt uns die Antwort: Die Stärke verschwindet in ihr und auch in den benachbarten, alle nehmen beträchtlich an Größe zu. Der Pilz besitzt „une action en distance". Gallaud (05) bemerkt dasselbe, drückt sich aber genauer aus: „Il semble que le champignon agit à distance sur l'amidon, et on pourrait penser à une émission de diastase de sa part."

Der Pilz führt nun, wie unsere Kulturen zeigen, tatsächlich ein diastatisches Enzym. Löst dieses die Stärke zu Zucker, so schafft es eine gewaltig erhöhte osmotische Aktivität des Zellsaftes und bedingt eine durch die starke Wasseraufnahme zu erklärende Vergrößerung der Zellen. Die Funktion des Pilzes resultiert somit aus seiner enzymatischen Qualität, die mit der Lösung der Kohlenhydrate in der Pflanzenzelle die Entwicklung des Samens einleitet. Die Entstehung einer konzentrierteren Lösung in den Zellen dürfte somit nicht einen Gewinn von löslichen Stoffen für die Zelle bedingen, wie Bernard anzunehmen scheint, sondern nur in einer Zustandsänderung der vorhandenen bestehen. Sie erklärt deshalb nur eine Aufnahme der Zellen von Wasser und nicht eine solche von Nährsalzen im Sinne der Hypothese.

Übertragen wir diese Überlegung von den Verhältnissen beim Keimling auf die der erwachsenen Pflanze — wir können das ohne weiteres, denn die Erscheinungen bei der Mycorrhiza sind genau dieselben — so finden wir hier, wo die Notwendigkeit eines Ersatzes für die spärliche Transpiration klarer vorliegt, die Frage, die in der Schwierigkeit ihrer Beantwortung zugleich den Beginn der Kritik der ganzen physikalischen Hypothese einschließt: Wie ist die zu fordernde, gegen die

der Autotrophen modifizierte Nährsalzaufnahme der Pflanze möglich, und wieweit ist die Zuleitung der Salze auf das Konto des Pilzes zu setzen? Der durch die Pilzdiastase erfolgte Abbau der Stärke wird auch hier die Zelle solange an Größe zunehmen lassen, bis der Druck wieder ein normaler geworden ist. Die nun eintretende rasche Absorption des Zuckers durch den seine Masse außerordentlich vergrößernden Pilz muß ein Minimum an osmotischer Energie schaffen, das sich durch Salze, an denen auch durch das Wachstum von Pilz und Zelle ein Verbrauch stattgefunden hat, ausgleichen muß. An andere höhere molekulare Stoffe kann man, ihrer im Verhältnis zur Masse geringen osmotischen Wirkung wegen, kaum denken. Läßt sich nun das entstandene osmotische Minimum direkt für die Aufnahme größerer Nährsalzmengen von außen und durch die absorbierenden Organe der Pflanze verantwortlich machen? Auf den ersten Blick scheint diese Annahme sinnlos, denn die zu starke Verminderung des Turgors müßte der Pflanze den Tod durch Austrocknen bringen, wenn sie nicht vielleicht besondere Vorkehrungen dagegen getroffen hat. Wir denken hier an die noch nicht geklärte Bedeutung des Schleims in den Schleimzellen, doch wollen wir diese gewagte Hypothese ausschließen, solange noch Hoffnung vorhanden, auf weniger verschlungenen Pfaden des Rätsels Lösung zu erreichen.

Das osmotische Minimum selbst mag also ohne Bedeutung sein für die Aufnahme der Salze. Dann ist es wahrscheinlich, daß der in Bedrängnis geratende Pilz Stoffe von außen zuleitet, um seinem auf höheren Gegendruck berechneten weitlumigen Mycel der Verdauungszellen die nötigen Baustoffe zur Festigung zu beschaffen. Die nun eintretende Bildung der Sporen homologen Eiweißhyphen könnte sehr wohl als Resultat einer Konzentrationsabnahme oder Wasserzunahme des umgebenden Mediums gedeutet werden, nach Analogie mit der in freier Kultur an eine bestimmte schwächere Konzentration des Nährmediums gebundene, erst nach Ausnützung

desselben erfolgende Sporenbildung (vgl. S. 42, 43). Wir sehen, wir kommen trotz Bernards Hypothese der Wirksamkeit der Verpilzung auf die Wasserzufuhr durch die Anreicherung des Zellsaftes an Molekeln und durch unsere Weiterführung des Gedankens nicht um die Annahme einer Zuleitung von osmotisch wirksamen Stoffen durch den Pilz herum.

Was wäre denn auch bei der geringen Transpirationsmöglichkeit durch die absorbierenden Organe der Pflanze mit einer verstärkten Zuleitung geholfen? Die Befunde Stahls von dem geringen Aschengewicht, insbesondere von dem Fehlen abgelagerten Kalkoxalats bei den mycotrophen Pflanzen sprechen zu deutlich für eine selektive Absorption der Nährsalze, die sich aber nur mit Hilfe des Pilzes, der sich überschüssigen Wassers und Kalkes schon vor seinem Eindringen in die Pflanze entledigt, vollziehen könnte.

Betrachten wir noch einmal kurz, an welchen Stellen wir in vorhergehender Ableitung Unbewiesenes vorausgesetzt haben. Der Pilz schafft eine höher konzentrierte Lösung in die Pflanze, sagt Bernard. Daß heißt, sagen wir, des Pilzes Diastase spaltet die Stärke der Pflanzenzelle zu Zucker. Wie bringt sie das denn fertig unter den gegebenen Verhältnissen? Die eindringende Hyphe wird doch sofort mit einer feinen Protoplasmahaut seitens der Zelle umgeben. Wir machen hier zum ersten die unbewiesene Annahme des Diffundierens des diastatischen Enzyms aus der Pilzhyphe durch die Plasmahaut in die Pflanzenzelle. Die Pflanze könnte vermöge ihrer Translokationsdiastase doch auch selbsttätig die Stärke lösen! Wir schließen auf das Vorhandensein von Zucker aus der Massenvergrößerung des Pilzes und aus seiner Fähigkeit, an den Reproduktionshyphen Sporen zu bilden, Punkte, die mit einer reichlichen Ernährung zusammenhängen müssen.

Indessen wäre die Frage nach der Wirksamkeit von Pilz- oder Pflanzendiastase schließlich für das Resultat einerlei. Wesentlicher wäre die, zu erklären, wie die Übertragung der

Salze aus den Hyphen des in dem durch die Absorption des Zuckers entstehenden osmotischen Minimum in Bedrängnis geratenden Pilzes in die Pflanzenzelle von statten gehen mag. Man könnte, ohne die Möglichkeit der direkten Diffusion aus den Hyphen zu postulieren, im Hinweis auf die Pilzverdauung eine Antwort geben; damit sie aber genüge, muß jener Faktor der Zuleitung von Reservestoffen durch den in Not geratenen Pilz ziemlich hoch gegriffen werden.

Wir wollen das „Ignoramus" nicht gerade aussprechen, doch bemerken, daß die Bedeutung dieses vielleicht allzu einfachen physikalischen Erklärungsversuches nicht überschätzt werden darf.

Tatsache bleibt, daß die Pflanze trotz ihres geringen Transpirationsstromes die Nährsalze, deren sie bedarf, erhält. Die biologische Betrachtungsweise läßt uns die Ursache in der Mycorrhiza suchen.

b) Die Assimilation des Stickstoffs.

Da der Stickstoff in Salzform von der Pflanze resp. vom Wurzelpilz aufgenommen werden kann, fällt ein Teil der Frage unter folgendes Kapitel und wird aus denselben Ursachen erklärt, wie die Aufnahme anderer Salze. Nun haben aber einige Forscher, die die Vermittlung des Pilzes bei der Absorption des Stickstoffs für das wichtigste Moment der ganzen Frage hielten, andere Möglichkeiten für die vorliegenden gehalten. Wir werden daher zuerst die Bedeutung des an Anorganica gebundenen Stickstoffs abzuwägen suchen, um dann zu jenen anderen möglichen Quellen überzugehen.

Bei geschichtlicher Betrachtung fällt uns auf, daß in der Frage des Stickstofferwerbs die Forschung den umgekehrten Weg wählte, wie bei der der Nährsalze, und erst als die Histologie den Gewinn der Pflanze an Stickstoff bewies, darauf verfiel, ihn auch biologisch wahrscheinlich zu machen.

Frank, der ursprünglich von der ectotrophen Form der Mycorrhiza ausgehend auf der Nährsalztheorie fußte, hat sich

aus Gründen obengenannter Art später bestimmen lassen, seine Hypothese für die endotrophe Mycorrhiza dahin zu modifizieren, daß dem Pilz in dieser Form der Vereinigung mit der Pflanze die Assimilation organischer Bodenstoffe obliege. Er nimmt eine Analogie zwischen insektivoren und pilzverdauenden Pflanzen an (91, S. 252): „Die pilzfressenden Pflanzen, um die es sich hier handelt (Orchideen, Ericaceen, Leguminosen, Erlen), „wissen mit noch raffinierteren Einrichtungen Pilze, ihre auserkorenen Opfer, in ihr Protoplasma einzufangen, darin groß zu züchten und schließlich zu verdauen, um so von der reichen Eiweißproduktion — gerade der Pilze — Nutzen zu ziehen. Es geht hierbei also der eine der beiden Symbionten im Organismus des anderen derart auf, daß er wie ein stofflicher Bestandteil des letzteren erscheint, der im Stoffwechsel schließlich verdaut wird."

Die Tatsache der Aufnahme von Eiweißsubstanzen kann denn auch wirklich nicht geleugnet werden. Wir haben die ausgedehnte Verdauung von Pilzhyphen, die zum Teil aus Reservestoffbehältern, den Eiweißhyphen, bestanden, in allen Formen der Mycorrhiza auftreten sehen; mit Ausnahme der ectotrophen, die unsere Diskussion überhaupt nicht einschließt. Diesem sichtbaren Gewinn der Pflanze an Eiweißkörpern geht kein sichtbarer Verlust an solchen vorher. Einzig und allein in den Durchlaßzellen scheinen eiweißartige Körper von der Pflanze abgegeben zu werden (vgl. S. 74). Stickstoff in Form von Nährsalzen könnte freilich unserer Beobachtung entgehen. Überhaupt ist nicht anzunehmen, daß der Pilz den ganzen zum Aufbau seines vegetativen und reproduktiven Körpers in der Pflanze nötigen Stickstoff dieser entziehen sollte. Dieselbe Überlegung, wie im vorigen Kapitel, setzt hier ein. Der Pilz wird in den Verdauungszellen alles Verfügbare an Salzen, also auch den Stickstoff, verbrauchen; er bildet, veranlaßt durch die ihm reichlich zu Gebote stehenden Kohlenhydrate, ein hypertrophiertes, einseitig ernährtes Mycel, dem er von außen eine Menge Bodenstickstoff zuführen

muß. Die Hypothesen der Stickstoffassimilation des Pilzes nehmen das auch alle an.

Die Biologie hat in Übereinstimmung mit den anatomischen Tatsachen die Beziehung zwischen dem Bedürfnis der Pflanze und den Bedingungen des Standortes in weitester Fassung festzustellen: hat sie das in der Stickstofffrage getan? Wir glauben nicht: weniges ist nur bekannt geworden. Auf den an löslichen Stickstoffverbindungen ärmsten Lokalitäten, den Hochmooren (und dem sterilen Sande) finden wir keine Orchideen, mit Ausnahme zweier in ihrer Mycorrhiza gänzlich unbekannter eben nur hier vorkommender Gattungen, die sich schon durch ihre systematische Stellung wesentlich unterscheiden, Malaxis und Microstylis (cf. Drude 1902, S. 219). Hier auf den Mooren war ein Gebiet, das sich die verpilzte Familie hätte erobern können, wenn die Mycorrhiza ihr einen bedeutenden Gewinn an Stickstoff garantiert hätte: fänden wir sie hier, dann wäre auch der Frank'sche Vergleich mit den Insektivoren berechtigt, die hier vorkommen. Man beachte wohl, wir sprechen nur von den Orchideen, nicht von den Moorpflanzen, bei denen der Erwerb des Stickstoffs wie der der Nährsalze mit einiger Wahrscheinlichkeit der regelmäßigen Verpilzung zuzuschreiben sind.

Ergebnisreicher wird die biologische Betrachtung, wenn wir das Gebiet der stickstoffarmen Standorte verlassend uns nach stickstoffreichen begeben, die gerade durch die Art der chemischen Bindung ihres Stickstoffs für die Pilze besonders geeignet sind. Hier kommen in erster Linie die mehr oder weniger humösen Böden in Betracht, auf denen der Kampf um die Nährsalze ein heftiger. Der aus den faulenden Substanzen freiwerdende Stickstoff wird von einem Heer von Mikroorganismen in Form vom Ammoniaksalzen absorbiert. Die Nitrifikation ist hier eine äußerst geringe. Für die mycotrophen Pflanzen dieser Standorte dürfte die Existenz leichter sein, weil sie mit solchen Mikroorganismen in Verbindung der Ammoniaksalze nicht verlustig gehen.

Frank hat die Möglichkeit der Assimilation der Ammoniumsalze durch den Pilz der Mycotrophen bereits erwähnt, wenn er ihn sich auch in der Hauptsache von organischen Stickstoffverbindungen des Bodens ernähren und diese durch die Verdauung in der „Pilzfalle" der Pflanze anheim fallen läßt. Die im Gegensatz zu den Nitraten ganz vorzügliche Qualität der Ammonsalze für die mycotrophe Orchidee beweisen unsere Kulturen, bei denen die Orchideenkeimlinge mit dem Pilz in Reinkultur, also bei fehlender Nitrifikation mit Ammonsalzen allein ganz ausgezeichnet gedeihen, mit Nitrat sich aber nicht viel besser, als auf stickstofffreiem Boden entwickeln.

Die Teilfrage der Aufnahme der Ammoniumsalze durch den Wurzelpilz der Orchidee und die Abgabe an diese in Form von Eiweißverbindungen fällt ganz unter die Nährsalztheorie Stahls. Da die Form der Abweichung vom Typus autotropher Pflanzen bei den Mycotrophen aber lediglich auf den veränderten Modus der Nährsalzgewinnung deutet, brauchen wir für die Assimilation des Stickstoffs in Nährsalzform keine spezifischen Anpassungen der Pflanze zu erwarten.

Neben dem Erwerb der Stickstoffsalze durch den Pilz geht möglicherweise einher die Aufnahme komplizierter gebauter organischer Stickstoffverbindungen, so der spezifischen Humusstoffe, über deren Verwertbarkeit für den Pilz leider noch keine Versuche vorliegen. Biologisch sind für diese lediglich angenommene Fähigkeit der Mycorrhiza, die Humusstoffe zu assimilieren, kaum irgend welche Momente aufzufinden, da sich die Möglichkeit des Erwerbs von Ammoniakstickstoff nicht bestreiten läßt. In den an Humussäure reichsten Böden finden sich überhaupt keine Orchideen und zwar nicht allein auf den Hochmooren, sondern auch in der als Rohhumus bezeichneten Bodenformation der Wälder. Die Orchidee verlangt immer — wie wir vermuten, ihrer Pilze wegen — eine gründliche Durchlüftung des Bodens und ihrer Wurzeln, wie die immer mit Luft gefüllten Intercellularräume und der horizontale, bei den hygrophilen sogar nach oben gerichtete

Wuchs der Wurzeln beweisen. Die Pilze besitzen ein hohes Sauerstoffbedürfnis und vertragen nicht viel Säure; die Gefahren, die das Sauerwerden der Böden mit sich bringt, weiß der Praktiker durch gute Durchlüftung seiner Töpfe zu vermeiden (cf. auch Ledien 08). Die schädlichen Säuren entstehen aber nur unter Sauerstoffabschluß. Er schlägt also zwei Fliegen mit einer Klappe.

Bei den nur schwach sauren Humusböden unserer Wälder und Triften, dem „guten" Humus des Forstmannes wäre dann allein die Auffassung der direkten Assimilation komplizierter Stickstoffverbindungen möglich und diese Möglichkeit soll hier in keiner Weise bestritten werden. Wir werden später noch einmal auf die Frage zurückkommen.

Frank hat, wie gesagt (seit 91), die Hauptbedeutung der endotrophen Mycorrhiza in der eben besprochenen Funktion des Pilzes gesehen. Mac Dougal drückt sich vorsichtiger aus, er spricht von der beim Pilz vorhandenen besonderen Fähigkeit für den Durchgang schwach oxydierter Substanzen und schließt daher auch die Ammonsalze ein. Janse (96) dagegen wendet sich ganz entschieden gegen diese Auffassung, die eine Verbindung der Pilze in der Pflanze mit denen im Boden vorauszusetzen scheint. Er hält die vorhandenen Pilzverbindungen für zu wenig zahlreich. Allerdings gründet er seine Ansicht mehr auf die Vertreter anderer Gruppen, als auf die Orchideen, von denen er nur wenige Arten untersuchte. Janses Hypothese von der Assimilation des freien Luftstickstoffs durch die Mycorrhiza scheint mit unseren Befunden an den Orchideen schlecht übereinzustimmen. Einmal wachsen weder Pilz noch Pflanze auf stickstofffreiem Substrat, wie dies z. B. die Erlen tun (cf. Hiltner 99). Zum anderen verliefen Versuche, die Assimilation des freien Stickstoffs in freier Kultur des Pilzes nachzuweisen, nach Beijerink (04) ergebnislos. Drittens spricht das Fehlen der Orchideen an Lokalitäten geringsten Stickstoffgehaltes dagegen. Für andere Mycorrhizabildner, so die Bewohner der Hochmoore, die Erica-

ceen und andere Familien mag die Assimilation freien Luftstickstoffs ein wichtiger Faktor in der Funktion der Mycorrhiza sein. Darauf deuten die Resultate der Analysen von Ch. Ternetz (07), die eine, wenn auch geringe Assimilation des freien Stickstoffs bei Hochmoorbodenpilzen — vielleicht sogar den Wurzelendophyten der Ericaceen — beweisen.

Uber die Form der Abgabe des aus dem Boden gewonnenen organischen Stickstoffs sind alle Forscher einig, daß sie bei der Verdauung erfolgt. Alle unsere bisherigen Folgerungen stehen im Zeichen der Voraussetzung, daß die Zuleitung der Hyphen in genügender Menge und Stärke vorhanden seien, den Stoffaustausch zwischen Pflanze und Pilz zu übernehmen. Bei Neottia nidus avis trifft dies, wie wir schon im Speziellen Teil erwähnten, nicht zu. Es dürften sich auch noch manche andere Formen finden, die zureichender Pilzverbindungen mit dem Boden entbehren: auch unter den in dieser Arbeit erwähnten, deren Beschreibung in diesem Punkte nicht genügt, und das sind nicht wenige. Außerhalb der Gruppe der Orchideenmycorrhizen scheint nach Janse und Gallaud jene eigentlich im strengsten Sinne endotrophe Verpilzung sehr verbreitet und insbesondere unter den Sporangiolenpilzen viele Vertreter zu haben. Die Frage, wie hier und insbesondere bei der holosaprophytischen Neottia der Stickstofferwerb von statten gehen mag, läßt sich am besten mit der nach dem der Kohlenhydrate zusammen behandeln, und soll deshalb später betrachtet werden.

c) Die Aufnahme der Kohlenhydrate.

Die Holosaprophyten — wir bezeichnen hiermit alle Orchideen mit gänzlichem Mangel oder einer zur normalen Assimilation gänzlich unzureichenden Menge von Chlorophyll, trotz Mac Dougals rigoroser Bestimmung, daß nur die absolut chlorophyllfreien diesen Namen führen sollen — demonstrieren uns durch ihre bleiche Farbe und ihren lichtarmen Standort, daß sie einen Ersatz für die Assimilation der atmo-

sphärischen Kohlensäure gefunden haben. Wie früher erwähnt, zeigen auch eine Anzahl grüner Formen die Tendenz zur Reduktion der Blattoberfläche und verhalten sich auch in ihrem Lichtbedürfnis wenig anspruchsvoll. Auch sie scheinen sich ihrer Pilze zum Erwerb ihrer Kohlenhydrate teilweise zu bedienen, sie bilden die Übergänge, die wir erwarten durften.

Wo stammt nun die Stärke her, die wir in Wurzeln und Rhizomen der Holo- und Hemisaprophyten finden? Wir kennen keine andere hier mögliche Bindung der Kohlensäure der Luft, außer der durch die Photosynthese bewirkten. Es liegt somit nahe, die organischen Bodensubstanzen für die Kohlenstoffquellen zu halten und den Pilz für die Absorption verantwortlich zu machen, besonders da man die Fähigkeit der Pilze, höher molekulare Substanzen abzubauen und zu assimilieren, kennt. Die in Betracht kommenden Verbindungen des Bodens sind mannigfaltige, so die auch als Stickstoffquellen denkbaren Humussäuren, andere organische Säuren, Glykoside, die faulendem Holze entstammen und vor allem die Celluloseearten, die zahlreiche Pilze lösen und verwerten können.

Bei weitaus den meisten Orchideen stößt nun die Annahme einer Assimilation dieser Bodensubstanzen auf keine besonderen Schwierigkeiten. Da, wo die Pilzhyphen von der Wurzel der Pflanze aus das Erdreich nach allen Richtungen durchsetzen, erscheint sie fast selbstverständlich. Bei anderen, so bis jetzt mit Sicherheit allein bei Neottia, fand man diese Pilzverbindungen nicht und mußte sich anders helfen, wenn man eine Erklärung des Phänomens geben wollte.

Die Art und Weise, wie bei der ersteren häufigeren Form der Mycorrhiza die Aufnahme der Kohlenhydrate vor sich gehen könnte, hat Mac Dougal (99) (vgl. S. 140, 141) bei Corallorhiza geschildert. Gerade dies Beispiel zeigt, wie alle anderen, die Unmöglichkeit, aus den anatomischen Tatsachen auf den Kohlenstoffgewinn der Pflanze zu schließen. In allen Fällen sehen wir dem Pilz die Stärke der Pflanze zum Opfer fallen, in keinem sie ähnliche Mengen wiedergewinnen. Trotzdem

müssen wir postulieren, daß die bei der Pilzverdauung gewonnene Menge an Glykogen und Ölen einer Stärkemenge entspricht, die größer ist als die abgegebene. Noch schlimmer liegt die Sache bei der zweiten Formenreihe: Bei Neottia finden wir in allem dieselben Verhältnisse, nur fehlt hier leider die Möglichkeit einer Aufnahme durch den Pilz, weil dieser sich nicht auch außerhalb befindet. Es resultiert, daß wir den Pflanzen dieser Reihe die Fähigkeit selbständiger Absorption des Bodenkohlenstoffs zuerkennen müssen.

Magnus (00) hat sich auch nicht gescheut, diese klare Konsequenz zu ziehen. Er vertritt eine Umwandlungstheorie. Die Pflanze soll höhermolekulare organische Stoffe dem Boden entnehmen und sie durch den Pilzzylinder der Wurzel gewissermaßen filtrierend zur Verwertung geeignet machen. Auch Bernard und Gallaud sind ähnlicher Ansicht. Daß aber das Protoplasma der epidermalen über dem Pilzgewebe liegenden Zellen für die in Betracht kommenden Stoffe durchlässig sein soll, wie Magnus annehmen muß, ist eine sehr gewagte Annahme. Die wichtigsten von ihnen sind unlöslich oder dürften zum direkten Durchgang ungeeignet sein, wie die Zellulose einerseits, die mit Zucker gepaarten Glykoside und die Humussäuren andererseits. Der Verbrauch der organischen Säuren, der Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure usw. ist zum mindesten sehr unwahrscheinlich, ganz abgesehen von ihren schädlichen Eigenschaften. Eine Absorption des in den faulenden Pflanzenteilen noch vorhandenen Zuckers ist bei der schnellen und gründlichen Arbeit der Mikroorganismen eine Unmöglichkeit.

In der bestehenden Form kann die Magnus'sche Hypothese der Umwandlung der von der Pflanze aufgenommenen Substanzen durch den Pilz somit nicht genügen. Wollen wir sie erklären, so müssen wir der Absorption der Bodenstoffe außerhalb der Pflanze eine Löslichmachung vorhergehen lassen. Vermochte der Endophyt nicht außerhalb der Wurzel tätig zu sein, so vermögen es vielleicht seine Fermente.

d) Die enzymatische Qualität der Wurzelpilze und ihre Bedeutung für die Pflanze.

Einige Experimente mit Neottiawurzeln, die aber ihrer wenig genauen Ausführungsweise hier keinen Platz finden sollen, brachten uns auf die folgende Erklärungsmöglichkeit, die wir hier, obgleich keinerlei positives Material an Experimenten vorliegt, nach ihrer Wahrscheinlichkeit, gewissermaßen a priori diskutieren wollen, damit die Aufmerksamkeit der Forscher auf diese Frage gerichtet, und positives oder negatives Material beschafft werde.

Pfeffer deutet den Gedanken einer Ausscheidung von Fermenten bei den Mycotrophen bereits 1877 an, gibt aber der lösenden Wirkung der Säure des Wurzelsekrets den Vorzug bei dem Erwerb organischer Stoffe.

Czapek negiert im vierten Kapitel seiner Arbeit des Jahres 1896, wo er auf Fermente im Wurzelsekret zu sprechen kommt, zunächst das Bestehen einer Ausscheidung von Fermenten bei den Wurzeln autotropher Pflanzen. Im Gegensatz zu Molisch (87) sind seine mit unverletzten Mais- und Bohnenwurzeln unter Ausschluß von Mikroorganismen zum Nachweis diastatischer invertierender und proteolytischer Enzyme im Wurzelsekret angestellten Experimente ergebnislos verlaufen. Über mycotrophe Pflanzen enthält er sich ausdrücklich des Urteils, weil sich die Wirkung des Pilzes von dem der Pflanze nicht trennen ließe.

Czapek setzt somit die Lösung der organischen Substanzen des Bodens durch den Wurzelpilz als selbstverständlich voraus. Und es ist auch selbstverständlich, daß der Pilz die für seine Ernährung in Betracht kommenden Stoffe zuerst durch seine Enzyme löslich macht, ehe er sie assimiliert. Mit dieser einfachen Tatsache wird aber eine nicht unbedeutende Schwierigkeit bei der Assimilation der organischen Stoffe durch die saprophytischen Orchideen hinweggenommen. Sind die Stoffe erst einmal in lösliche und für den Durchgang durch pflanzliches Exoplasma geeignete Form gebracht,

so besteht das Recht nicht mehr, die Aufnahme dieser Derivate durch die Pflanze zu leugnen. Die Pflanze braucht also im extremen Fall nur die Fähigkeit, den Pilz in der Nähe der Wurzeln zu halten. Czapek kommt von einer anderen Seite auf dasselbe Resultat (96, S. 388): „Eine weitere Bedeutung der saueren Wurzelausscheidung könnte endlich in einem Einfluß auf symbiotisch lebende Pilze liegen, und es ist nicht undenkbar, daß die Pflanzenwurzeln ihre Knöllchenpilze oder ihre Mycorrhizapilze durch eine passend saure Reaktion der Umgebung sich gewissermaßen heranzüchten, indem unter diesen Verhältnissen kein anderer Bodenorganismus so wohl gedeiht, wie der spezifische Wurzelpilz, der seinerseits an die Wurzel wieder assimilierte Stoffe abgibt. Während der Mycorrhizapilz aus organischen Verbindungen der Erde wenigstens teilweise seine Nahrung zieht, brauchte die Wurzel, um sich die durch den Pilz assimilierten Stoffe zugänglich zu machen, nur die Fähigkeit, den Pilz an sich zu fesseln, sei es durch chemische Reizwirkung, sei es durch Schaffung eines nur für diese Spezies und für keine andere Pilzart geeigneten Nährmediums, unter Beihilfe von seitens der Wurzelzellen ausgeschiedenen Substanzen."

Die Pflanze tut aber in der endotrophen Mycorrhiza noch mehr für ihren Wurzelpilz; sie ernährt ihn, wie wir gesehen haben vom eigenen Leibe mit ihrer Stärke und befähigt ihn — man denke an das Beispiel der ersten Reihe, an Corallorhiza, — seine Emissionshyphen nach außen zu entsenden, deren Exoenzyme das Substrat in der Umgebung der Pflanze durchdringen und die geeigneten Stoffe löslich zu machen, die auf zwei Wegen zur Pflanze gelangen können: Einmal fallen sie, vom Wurzelpilz absorbiert, der Pflanze bei der Verdauung anheim, zum anderen werden sie von ihr direkt assimiliert.

Dieser Typus bildet zu denen der zweiten Reihe, die uns wegen ihrer fehlenden Pilzverbindungen mit dem Substrat so viel Kopfzerbrechen machen, einfach einen Übergang. Denken

wir uns den Pilz von seinem Sitz innerhalb der Wurzel durch seine nach außen diffundierenden Enzyme die Lösung der Bodensubstanzen herbeiführen, so wird die Pflanze die Stoffe absorbieren können, die dann allerdings dem einen regelmäßigen Zylinder in der Wurzel formierenden Pilz wieder anheimfallen müssen und erst durch die Verdauung an die Pflanze gelangen.

Leider ist es uns bis jetzt nicht gelungen, einen der Pilze der Holosaprophyten in freier Kultur zu erhalten. Doch sind ja auch die Pilze der grünen Orchideen so geartet, daß sie ihre Pflanzen im Jugendstadium holosaprophytisch zu erhalten vermögen. Einige der von diesen produzierten Enzyme haben wir zu identifizieren vermocht. Welche von ihnen kommen nun zur Lösung der Bodensubstanzen in Betracht? Die diastatischen Enzyme sind durch Diastase und Emulsin vertreten. Das Vorkommen der Diastase ist im Hinblick auf die intracellularen Vorgänge genügend erklärt und kann im Boden nicht von Bedeutung sein, da dem Enzym das Objekt fehlt, auf das es wirken soll. Cytasen, die wir bei dem reichen Vorrat an Cellulose im Boden hätten eher erwarten dürfen, fehlen gänzlich. Bei dem einen aus Ophrys tenthredinifera kultivierten Pilz sind sie allerdings vorhanden; sie zeigen hier ihre Unzuträglichkeit für die Pflanze, indem sie dem Pilz ein zu starkes Eindringen in den Embryo der Samen erlauben, das diesen vernichtet.

Es bleibt uns somit bis jetzt nur das Emulsin, das alle Pilze sogar bei Abwesenheit von Glykosiden in freier Kultur absondern. Über die Vorräte des Bodens an Glykosiden lassen sich aber keine genauen Feststellungen machen. Daß sie hier zu finden sind, beweist die ausgedehnte Verbreitung des Emulsins bei verschiedenen Pilzen, besonders den holzbewohnenden Arten und Gattungen (Bourquelot 94). Guignard hat kürzlich (05) eine Arbeit veröffentlicht, über: „Quelques faits relatifs à l'histoire de l'émulsine; existence générale de ce ferment chez les orchidées.“ Guignard

stellt darin das ganz allgemeine zum Unterschied von den bei den parasitischen Phanerogamen ausnahmslose Vorkommen des Emulsins bei einer Anzahl europäischer und exotischer Orchideen fest. Den größten Gehalt des Ferments findet er in den Wurzeln und Luftwurzeln, einen geringeren in den Knollen, einen noch geringeren oder gar keinen in Achsen und Blättern. Eine Erklärung der Bedeutung des Emulsins gibt er nicht; er beschränkt sich mit einem Hinweis auf die in Zusammenhang mit dem Enzym stehende Bildung von Geruchsstoffen, wie des Vanillins.

In der Ergründung dieser übereinstimmenden Befunde bei Orchideen und ihren Wurzelendophyten eröffnet sich ein Ausblick auf ein interessantes Gebiet für neue Arbeit. Wir müssen uns hier, weil uns die Voraussetzungen zu weiteren Schlüssen fehlen, begnügen auf die Anologie der Erscheinung bei Pflanze und Pilz hingewiesen zu haben.

Die proteolytischen Enzyme, die wir bei unseren Pilzen kennen, scheinen wenig geeignet, eine wichtige Funktion beim Aufschluß des Bodens auszuüben. Es bleibt bei ihnen dahingestellt, ob sie vom Pilz abgeschieden werden und nicht etwa einfach aus absterbenden Hyphen diffundieren.

Wir glauben nicht, daß die Aufnahme organischen Stickstoffs wegen der näherliegenden Möglichkeit des Erwerbs desselben in Form von Ammonsalzen eine große Rolle spielt. Zum mindesten bei Neottia ist eine Diffusion eines vom Pilz gelieferten proteolytischen Enzyms durch die Wurzel nach außen sehr unwahrscheinlich, da es die Zellen der Pflanze schädigen dürfte; wahrscheinlicher noch die Absonderung eines solchen Enzyms seitens der Pflanze direkt.

Die aus der enzymatischen Qualität der Wurzelpilze auf die Mycorrhiza der holosaprophytischen Formen und Entwicklungszustände der Orchideen gezogenen Schlüsse sind von rückwirkender Kraft auf die Verhältnisse bei den grünen autotrophen Formen und Entwicklungszuständen. Sind wir, da die Erscheinungen der Mycorrhiza bei beiden genau die-

selben, berechtigt, für die letzteren eine wenn auch schwache Mithilfe bei der Ernährung in saprophytischer Form zu leugnen? Wir glauben das nicht. Die Mycotrophen wären somit mit den Hemisaprophyten identisch, unterschieden sich nur durch den Grad ihres Saprophytismus von einander.

Eins bleibt bei allem fest bestehen: Von ausschlaggebender Bedeutung für die Entstehung und Erhaltung der Orchideensymbiose waren die Beziehungen zwischen der Pflanze und den Mineralsalzen des Bodens; die vorher besprochene Bedeutung der Mycorrhiza für den Erwerb organischer Nahrung wird nie allein die von Stahl biologisch gedeuteten Veränderungen im Bau und der Ausgestaltung der Pflanzen. und ebensowenig die von Bernard erforschten entwicklungsgeschichtlichen Phänomene verständlich machen können.

Anhang.

Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine neue umfangreiche Publikation Bernards (Ann. Sc. Nat. 9. série Bot. T. IX. p. 1—196), betitelt „L'évolution dans la Symbiose. Les orchidées et leurs champignons commensaux", die eine Menge neuen Materiales brachte, das wir leider hierin nicht mehr verwerten konnten. Bernard unternimmt in theoretischer Hinsicht nicht mehr und nicht weniger, als den systematischen Aufbau der Orchideenfamilie in Beziehung zu setzen zu den verschiedenen Formen ihrer Keimungsmycotrophie. Hierzu dienen ihm eine Anzahl neuer und interessanter Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte von Orchideenkeimlingen bei Infektion der Samen mit den zugehörigen und mit fremden Pilzsymbionten. Es würde viel Raum beanspruchen, wollten wir dem Autor auf seinen Pfaden folgen, die z. T. aus seinen früheren Veröffentlichungen in diese neue Schrift hinüberführen; ohne ein sehr ausführliches Referat zu geben, wäre es schwer, einen Boden für eine objektive Kritik und auch eine Würdigung seiner von den gewöhnlich angetroffenen häufig sehr abweichenden Ansichten zu finden. Wir verweisen daher auf das Werk selbst.

Anders liegt es mit Bernards reichhaltigen Befunden über Formen und Funktionen unserer Orchideenpilze; hier sind wir im Stande, eine Anzahl wesentlicher Tatsachen herauszugreifen und nachzutragen, die geeignet sind, unsere Feststellungen zu ergänzen und unser Wissen abzurunden.

Zur Systematik.

Bernard stellt zunächst die sehr wahrscheinliche Zugehörigkeit der Orchideenendophyten zur Gattung Rhizoctonia fest. Den Abbildungen seiner Pilze fügt er eine ebensolche der auf demselben Substrat kultivierten Rhizoctonia solani Kühn (= violacea Tul.) gegenüber, aus welchen eine ganz auffallende Ähnlichkeit beider Formen hervorgeht, auf deren Vorhandensein, wie er selbst bemerkt, nach den Angaben der Bestimmungswerke kaum hätte geschlossen werden können.

Die Orchideenpilze, oder, wie wir sagten, Orcheomyceten wären also mit dem Gattungsnamen Rhizoctonia zu belegen. (Rhizoctonia selbst soll nach Bernards Befunden in der Literatur als steriles Mycel zur Basidiomycetengattung Hypochnus gehören.)

Bernard unterscheidet bei den Orchideenpilzen nur drei Arten, die sich allerdings in eine Reihe von Wuchsformen auflösen. Des Vergleiches mit unseren Pilzen wegen seien die Diagnosen hier aufgeführt:

Rhizoctonia repens. Mycelium toujours rampant, formant sur les milieux nutritifs riches un voile épais, blanc jaunâtre, qui peut devenir brun clair tardivement. Filaments moniliformes ramifiés, groupés en petits amas granuleux, jamais anastomosés. Pelotons formés par l'enroulement de filaments mycéliens sur eux-mêmes pendant de nombreux tours.

Isoliert aus: Laelio-Cattleya, Laelia, Spiranthes, diversen tropischen Cypripedien, Cymbidium Lowianum, Aerides maculosum, Bletilla und Coelogyne massangeana. Es bestehen Unterschiede zwischen den einzelnen Formen in der Dichte des Wuchses.

Rhizoctonia mucoroïdes. Au dessus du voile lâchement appliqué sur le substratum se dressent de longs filaments aériens. Sur les milieux nutritifs riches ces filaments, abondants et serrés, forment un touffe d'un gris brunâtre: les jeunes cultures rapellent alors par leur aspect général celles des Mucor ou Sporodinia. Les filaments moniliformes ramifiés forment en s'anastomosant de petits sclérotes irréguliers épais sur le voile, blanchâtres d'abord mais prenant bientôt une couleur brune assez foncée. L'enroulement du mycelium des pelotons ne se prolonge pas pendant plus de quatre ou cinq tours, les pelotons se flétrissent rapidement.

Isoliert aus Phalaenopsis amabilis und Vanda tricolor.

Rhizoctonia lanuginosa. Les cultures sur les milieux nutritifs riches prennent un aspect cotonneux par suite du développement précoce sur le voile d'un duvet blanc de filaments aériens. Les filaments moniliformes, à articles allongés, s'anastomosent et forment des sclérotes compacts, charnus, à surface mamelonnée, d'abord blancs opalescents, prenant tardivement une teinte orangée ou ocracée pâle; les sclérotes sont peux nombreux; leur taille est variable, le plus gros dans mes cultures atteignaient la grosseur d'un pois. L'enroulement du mycelium en pelotons peut se prolonger pendant de nombreux tours.

Wiederholt isoliert aus Odontoglossum grande.

Rhizoctonia repens ist, wie sofort zu sehen, identisch mit unserer ersten Gruppe des Typus Psychodis. Bernard hat verschiedene Formen dieser ersten, anscheinend weit verbreiteten Gruppe unter die eine Bezeichnung gebracht. Auch Pilze unserer zweiten Gruppe des Typus Apiferae könnten hierher gehören, so z. B. die aus Ophrys fusca und O. aranifera R. isolierten.

Rhizoctonia mucoroides entspricht ziemlich gut den Pilzen unserer vierten Gruppe des Typus constricti; nur enthält jene Gruppe zum Unterschied von der Bernard'schen vorzügliche, aus Odontoglossum und Oncidium isolierte Keimungspilze für Odontoglossum. Die beiden aus Vanda suavis und Phalaenopsis Schilleriana isolierten Pilze sind mit einiger Sicherheit mit Rhizoctonia mucoroides identisch.

Rhizoctonia lanuginosa läßt sich unter unseren Pilzen nicht auffinden.

Zur Erscheinung der Degeneration der Wurzelpilze.

Bernard schildert uns (S. 88ff.) ausführlich die Geschichte seiner Erfahrungen über die Degeneration der Wurzelpilze. Ein zu Rh. repens gehöriger Pilz war 1906 aktiv und brachte Cattleyasamen zur Keimung. Ende 1907 war er gänzlich degeneriert. Ein Mycel von Rh. lanuginosa, das im November 1904 isoliert war, löste im August 1905 die Keimung von Odontoglossumsamen aus. Im August 1906 keimte mit demselben Mycel kein Same mehr. Rh. mucoroïdes, der Keimungspilz für Phalaenopsis und Vanda, erwies sich ebenfalls nach einjähriger Kultur als wirkungslos.

Bernard hat auch Pilze isoliert, die von vornherein ungeeignet waren, die Keimung auszulösen, die sich aber von den aktiven in morphologischer Beziehung nicht unterschieden, und aus denselben Arten von Mutterpflanzen stammten. Solche traf er meist in den Pflanzen besonders gut gehaltener und sauberer Orchideenhäuser an, während ihm Pflanzen aus schlecht gehaltenen virulente Pilze lieferten. Es zeigt sich also, daß die Degeneration der Wurzelpilze auch außerhalb der Kultur auf künstlichem Substrat eintreten kann, daß ein Pilz aber auch — ein Schluß, den Bernard nicht zieht — unter günstigen Bedingungen, wie er sie in den schlechten Häusern findet, dauernd seine Virulenz behalten kann. Es gilt nur, diese Bedingungen zu verwirklichen, eventuell im absichtlich schlecht gehaltenen Haus und mit wenigen Pflanzen, um aktive Pilze isolieren zu können.

Die Keimungsexperimente Bernards

beschäftigen sich hauptsächlich mit wechselnden Kombinationen von Samen und Pilzen und Infektionen von Samen mit Pilzen verschiedener Aktivität. Er unterscheidet mögliche und nicht mögliche Assoziationen von Pilz und Samen.

Zu den nicht möglichen gehört zunächst die von der auf den Kartoffelknollen lebenden Rhizoctonia violacea und Samen von Bletilla, Laelia × Brassavola, Odontoglossum, Phalaenopsis und Vanda. Die ersten drei bleiben vom Pilz unberührt, die letzteren beiden werden durchdrungen und getötet.

Ferner gehört zu den unmöglichen Synthesen die Verbindung von Rhizoctonia repens mit Odontoglossumsamen, weil der Pilz sofort nach seinem Eindringen in den Embryo von dessen Plasma verdaut wird.

Ähnlich verhalten sich alte Kulturen von Rhizoctonia lanuginosa und mucoroïdes.

Die umgekehrte Erscheinung tritt bei Infektion von Phalaenopsis- und Vandasamen mit Rh. repens auf: Der Pilz tritt ein, es findet eine zu schwache Verdauung des Mycels statt; der Pilz wird Herr über den Samen und tötet ihn endlich ab.

Von den möglichen Assoziationen sei nur eine hier hervorgehoben, nämlich die von Laelia × Brassavolasamen mit einer virulenten Kultur von Rh. mucoroïdes: Die Samen keimen rapid, in einem Monat entstehen zahlreiche Papillen und die ersten Blattanlagen, in zwei Monaten sind die Blätter entwickelt, im dritten sterben die Pflänzchen in kurzer Zeit alle ab. Der Pilz, der sich anfänglich weit in den Keimpflanzen ausgebreitet hat, wird im dritten Monat gänzlich verdaut. Die Pflanze enthält in diesem Zustand kein lebendes Mycel mehr. Eine neue von außen durch die Papillen erfolgende Infektion tötet die Pflanze auf der Stelle. Ähnliche Verhältnisse findet Bernard bei anderen Kombinationen.

Wir sind der Ansicht, daß ähnliche Assoziationen gegebenenfalls bei geeigneter Ernährung der Pflanze, insbesondere bei Verwendung mineralischer Nährlösung statt des hochkonzentrierten Salepsubstrats, das Bernard anwendet, zu dauernden gemacht werden könnten. In unseren Kulturen traten bei Odontoglossumkeimlingen in Verbindung mit dem Pilz von Odontoglossum constrictum, der der Rhizoctonia mucoroïdes Bernards in Aussehen und Wuchseigentümlichkeiten ähnelt und die Samen zu einer außerordentlich rapiden Entwicklung befähigt — in $3^1/_2$ Monaten erreichen Keimlinge auf einem Substrat von 1 % Stärke und mineralischer Nährlösung bei wiederholtem Umpikieren einen Durchmesser der Keimknolle von 3 und eine Länge von 8—10 mm und bilden drei Blätter aus — ähnliche Erscheinungen ein. Die Keimlinge wurden durch ein dichtes Hyphennetz vollständig eingehüllt, das sie fast wie eine ectotrophe Mycorrhiza umgab, und einige starben ab. Sie zeigten sich ganz vom Pilze durchdrungen.

Es bleibt dahingestellt, ob diese Infektion hier ebenso wie bei den Bernard'schen Versuchen die Ursache des Todes der Pflanzen war, oder eine Begleiterscheinung. Der Grund für das Absterben der Keimlinge könnte eine Folge der Überernährung der Pflanze an Zucker gewesen sein. Pflänzchen, die sich vor dem kritischen Stadium befanden, konnten durch mechanische Entfernung des sie umgebenden Hyphennetzes und Umpikieren auf ein weniger Kohlenhydrate enthaltendes Substrat ($^1/_{20}$ % Stärke) zur dauernden Entwicklung gebracht werden.

Des weiteren beschreibt Bernard eine Anzahl von Anomalien, die an Keimpflänzchen seiner Kulturen auftraten. Besonderes Interesse verdient die durch schöne Abbildungen unterstützte Beschreibung fasciierter, in Kultur mit Rhizoctonia lanuginosa gebildeter Vandakeimachsen.

Zur Darstellung der intrazellulären Vorgänge.

Bernard beginnt mit Schilderung der Funktion der Einlaßzellen (cellules de passage) und ihrer anziehenden Eigenschaften auf den Wurzelpilz. Einmal infiziert, verlieren sie ihre Fähigkeiten. Die Pflanze bleibt eventuell, wenn z. B. das Mycel eines wenig aktiven Pilzes verdaut ist, gegen weitere Infektion so lange geschützt, bis neue Durchlaßzellen gebildet werden. Bernard spricht direkt von einer Impfung (vaccination) der Keimpflanzen, ein Ausdruck, der uns den Verhältnissen nicht ganz zu entsprechen scheint. Die Einlaßzellen verlieren, wenn sie vom Pilz durchdrungen werden, aus naheliegenden Gründen ihre anziehende Wirkung auf den Pilz. Das Verschwinden der Inhaltsstoffe ist, wie wir sahen, leicht zu beobachten, und nahrungsarme Zellen sucht der Pilz nicht auf. Eine Absonderung eines spezifischen chemotropischen Agens ist von den verpilzten Zellen erst recht nicht mehr zu erwarten.

Interessant und von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit für die Praxis ist die diesen Verhältnissen entsprechende, von Bernard schon 1908 berichtete Tatsache, daß ein einmal durch einen Wurzelpilz geringer Aktivität infizierter Keimling durch nachträgliche Zugabe eines aktiven nicht mehr zur normalen Entwicklung gebracht werden kann, weil die Bedingungen einer nochmaligen Infektion nicht mehr gegeben sind. Sollen Aussaaten in der Praxis erfolgreich ausfallen, muß also das Vorhandensein inaktiver Pilze verhindert werden, was sich durch Abkochen der verwandten Materialien leicht erreichen läßt.

Die Schilderung der Pilzverdauung — Bernard entnimmt hier wieder der Pathologie einen Ausdruck, er sagt Phagocytose, der in diesem Fall den Verhältnissen aber besser entspricht — enthält wesentliche Angaben über die Verpilzungsform verschiedener Keimlinge.

Der Autor schließt aus seinen Befunden, daß Beziehungen zwischen dem Wachstum der Pflanze und dem Grad der erfolgten Pilzverdauung nicht bestehen. Die Verdauung scheint ihm lediglich Mittel, den Pilz in erforderlichen Schranken zu halten.

Die Bedeutung der Symbiose sieht er, wie schon in unserer Arbeit wiederholt erwähnt, in der durch den Pilz verursachten Erhöhung der Konzentration des Zellsaftes in der Pflanze, die diese zum Wachstum veranlaßt.

Die letzten Kapitel bilden denn auch den Höhepunkt seiner Abhandlung. Es dreht sich bei ihm um die Frage, wie Orchideensamen auf geeignet konzentrierten Böden ohne Pilz zur Entwicklung gebracht werden können. Er zeigt hier, daß sich Keimlinge ohne Pilz auf verschieden konzentrierten Nährböden entsprechend verhalten denen mit Pilzen steigender Aktivität versehenen: „L'accroissement de concentration des solutions, pour des plantes élevées sans champignons entraine les mêmes résultats que l'accroissement d'activité des champignons pour les plantules soumises à la symbiose."

Ein Beispiel sei angeführt: Eine mit 30 ‰ Salep, 20 % Sacharose hergestellte Nährlösung wird so mit Wasser verdünnt, daß die folgenden (durch die Methode der Gefrierpunktserniedrigung kontrollierten) Konzentrationen entstehen:

2,1—4,2—8,5—17—25,5—34—51—68.

Auf diese brachte Bernard Cattleyasamen und beobachtete sie während $3^1/_2$ Monaten. In dieser Zeit hatte sich die Konzentration in den einzelnen Kulturen durch die Verdunstung des Wassers annähernd wie folgt erhöht:

3—6—12—24—34—44—66—88.

Die Keimlinge haben sich auf den Nährböden geringer Konzentration schlecht entwickelt, auf den höherer besser, auf den höchster wieder schlecht. Bei der Anfangskonzentration von 25,5 wurde das Maximum der Entwicklung erreicht. Bernard erhielt auf einer solchen optimalen Konzentration (4 % Salep, 3 % Sacharose) aus Laeliasamen sogar bewurzelte, wenn auch z. T. anormal entwickelte Pflanzen.

Ohne die Richtigkeit der Bedeutung der Konzentration der Nährlösung für die Entwicklung der Samen der Orchideen bestreiten zu wollen, sei hier zur Kritik aller dieser Experimente bemerkt, daß die Gründe für die Entwicklung der pilzfreien Pflanzen nicht allein in der Konzentration gesucht werden können. Die bessere Ernährung der Pflanzen, die leicht zugänglichen Kohlenhydrate und die bei hohem Salepgehalt der Lösung auftretende genügende Menge von Mineralsalzen mögen ein Wort mitgesprochen haben. Durch Mineralsalze erhöhte Konzentrationen hat Bernard, wie er selbst erwähnt, wegen der Giftwirkung, die diese im Gefolge zu haben pflegen, nicht angewandt.

Bei der Beurteilung aller Bernard'schen Kulturresultate mit Pilzen wie mit Pflanzen erscheint uns die Verwendung ausschließlich organisierter Nährstoffe, die eine Überernährung der Organismen mit Kohlenhydraten mit sich bringen müssen, als wesentlicher Faktor in Rechnung zu ziehen.

Im letzten Kapitel seiner Arbeit, das die Überschrift trägt: „Mechanisme de l'action des champignons endophytes", bestimmt Bernard direkt die Konzentrationen, die in einer Nährlösung bestimmten Gehaltes entstehen, wenn der Wurzelpilz darin kultiviert wird. (Es handelt sich dabei entsprechend der zugegebenen Sacharose wohl hauptsächlich um eine invertierende Wirkung des Wurzelpilzes, die Spaltung der Sacharose in Glucose und Fructose, in geringerem Grade um die Zerlegung der im Salep mit beigegebenen Stärke in Maltose und dieser eventuell wieder in Glucose.) Im einzelnen wurden die Experimente folgendermaßen angestellt: Je 30 ccm einer 1 % Salep und 5 % Sacharose enthaltenden Lösung wurden mit einem der drei Endophyten geimpft und bei 27 Grad gehalten. Nach Abschluß des

Experiments wurden durch Gefrierpunktsbestimmung die Konzentrationen beider Lösungen festgestellt. Es ergaben sich folgende Resultate:

	Volume final du liquide, ccm	Température de congélation
Solution stérile	24	—0,38
„ „ avec Rh. lanuginosa	24	—0,43
„ „ avec Rh. repens	25	—0,55
„ „ avec Rh. mucoroïdes	24	—0,64

Bernard kommt beim Vergleich dieser Resultate mit denen seiner Kulturen zu dem wichtigen Ergebnis, daß das invertierende Vermögen des Wurzelpilzes und damit der Grad der Erhöhung der Konzentration der Lösung seiner Aktivität direkt proportional sei.

Zu bemerken ist hierzu, daß das Experiment den in der Pflanze gegebenen Bedingungen nicht ganz entspricht — handelt es sich hier nicht um Invertasen, sondern um eine gewisse Form von Amylase — daß es aber geeignet ist, die Wirkung der Pilzenzyme auf den Inhalt der Pflanzenzelle anschaulich zu demonstrieren.

Am Ende seiner Arbeit gibt Bernard einen längeren Anhang, in dem er in sehr ausführlicher Weise über seine Methodik und seine praktischen Erfahrungen bei Keimungsversuchen verschiedener Orchideengattungen berichtet. Ich beabsichtigte anfänglich dieser Schrift einen ähnlichen Abschluß zu geben, habe es aber unterlassen, einmal weil ich bei Schilderung der bakteriologischen Methoden sehr viel Selbstverständliches hätte bringen müssen, zum anderen weil die Darstellung der Bernard'schen sehr ähnlich ausgefallen wäre. Die methodologische Selektion ist hieran schuld. Ich bin auch der Ansicht, daß jeder nach den im Texte eingestreuten Bemerkungen ohne Schwierigkeit und mit gutem Erfolg ähnliche Studien vornehmen kann, ohne die lange Reihe der Mißerfolge, die bei der Bearbeitung neuer Gebiete unausbleiblich sind, ganz durchkosten zu müssen. Für eine umfassende Darstellung, die in der Hauptsache die Bedürfnisse der praktischen Orchideenzüchtung im Auge hat, halten wir die Sache noch nicht für reif.

* * *

Am Schlusse dieser Schrift bleibt mir noch übrig, allen, die mir in diesen Untersuchungen ihr Interesse liehen und mich durch Rat und Tat bereitwillig unterstützten, meinen tief empfundenen Dank auszusprechen. Vor allen meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. E. Stahl; ferner den Herren Professoren Dr. O. Drude, Dresden; Dr. Zacharias, Hamburg; Dr. O. N. Witt, Berlin; Herrn Dipl.-Ing. N. L. Swart, Leipzig; Fräulein A. Moritz, Berlin; den Herren Garteninspektoren E. Rettig, Jena und M. Löbner, Dresden, den Herren Orchideenzüchtern Th. Franke und P. Wolter in Großottersleben und Magdeburg nebst vielen anderen.

Jena, im August 1909.

H. Burgeff.

Literaturverzeichnis.

1804 Salisbury, On the germination of the seeds Orchideae, Trans. Linn. Societ. VII.

? *Link, Icones selectae anat. bot. fasc. II. tab. VII. (Keimung von Goodyera procera und Angraecum maculatum.)

1846 Reissek, Die Endophyten der Pflanzenzelle, Wien.

1849 Schleiden, Grundzüge der wissenschaftlichen Botanik.

1850 Irmisch, Zur Morphologie der monocotylischen Knollen- und Zwiebelgewächse. Berlin.

1853 Irmisch, Beiträge zur Biologie und Morphologie der Orchideen. Leipzig.

1854 Schacht, H., Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Gewächse. VII. Über die Fortpflanzung der deutschen Orchideen. Monatsb. der Berliner Akad. d. Wiss.

1855 Fabre, I. H., Recherches sur les tubercules de l'Himanthoglossum hircinum. Ann. Sc. Nat. Bot. 4⁰ série, III.

1856 Fabre, I. H., De la germination des Ophrydées et de la nature de leurs tubercules. Ann. Sc. Nat. Bot. 4⁰ série V.

Prillieux, E., De la structure anatomique et du mode de végetation de Neottia Nidus Avis. Ann. Sc. Nat. Bot. IV.

Prillieux, E. et Riviere, A., Observation sur la germination et le développement d'une Orchidée (Angraecum maculatum). Ann. Sc. Nat. Bot. 4⁰ série.

1860 Prillieux, E., Observation sur la germination de Miltonia spectabilis et de divers autres Orchidées. Ann. Sc. Nat. Bot. 4⁰ série XIII.

1863 Beer, Beiträge zur Biologie und Morphologie der Orchideen. Leipzig.

1865 Leitgeb, Die Luftwurzeln der Orchideen. Denkschrift der Akad. der Wiss. Wien.

*) Arbeiten, die nicht im Original vorlagen.

1873 Drude, Die Biologie von Monotropa hypopitys und Neottia nidus avis unter vergleichender Heranziehung anderer Orchideen. Göttingen, Preisschrift.

Reinke, Zur Kenntnis des Rhizomes von Corallorhiza und Epipogon. Flora, LVI.

1877 Pfeffer, W., Über fleischfressende Pflanzen und über die Ernährung durch die Aufnahme organischer Stoffe überhaupt. Landwirtsch. Jahrb.

1879 Treub, Notes sur l'embryogénie de quelques Orchidées. Naturk. Verhandl. XIX. Amsterdam.

1881 Kamiensky, Les organs végétativs du Monotropa hypopitys. Mém. d. l. Soc. d. Sc. nat. et math. d. Cherbourg.

1884 Mollberg, Untersuchungen über die Pilze in den Wurzeln der Orchideen. Jenaer Zeitsch. XVII.

1885 Frank, B., Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber. d. deutsch. bot. Ges. III.

Frank, B., Neue Mitteilungen über die Mycorrhiza der Bäume und der Monotropa hypopitys. l. c.

Johow, F., Die chlorophyllfreien Humusbewohner Westindiens, biologisch-morphologisch dargestellt. Jahrb. f. wiss. Bot. XVI.

1886 Hartig, Über symbiotische Erscheinungen im Pflanzenleben. Bot. Zentralbl. XXV.

Wahrlich, W., Beitrag zur Kenntnis der Orchideenwurzelpilze. Bot. Ztg. XLIV.

1887 Frank, B., Über neue Mycorrhizenformen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. V.

Molisch, H., Über Wurzelausscheidungen und deren Einwirkung auf organische Substanzen. Sitzungsb. d. Kaiserl. Akad. Wien. Mathem. naturw. Abt. Bd. 96.

Vöchting, H., Ueber die Bildung der Knollen. Kassel.

1888 Laurent, Recherches expérimentales sur la formation d'amidon de la plante. Bull. Soc. Roy. de Bot. de Belgique.

1889 Johow, F., Die chlorophyllfreien Humuspflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. XX.

Lundstroem, Einige Beobachtungen über Calypso borealis. Bot. Zentralbl. XXXVIII.

Schlicht, Beitrag zur Kenntnis der Verbreitung und der Bedeutung der Mycorrhizen. Inaug.-Diss.

1891 Frank, B., Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende Symbiose der mit endotrophen Mycorrhizen begabten Pflanzen, sowie der Leguminosen und Erlen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. IX.

1892 Frank, B., Lehrbuch der Botanik. Leipzig.

Höveler, W., Ueber die Verwertung des Humus bei der Ernährung der chlorophyllführenden Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. XXIV.

1893 Thomas, The genus Corallorhiza. Bot. Gazette.

1894 *Cavara, Ipertrophie ed anomalie nucleari in sequito a parasitismo vegetali. Rivista d. path. veget. Firenze, V. Franz: Rev. mycol. XIX.

Groom, P., Contributions of the Knowledge of Monocotyledonous Saprophytes. Journ. Linn. Soc. XXXI. London.

1896 Czapek, F., Zur Lehre von den Wurzelausscheidungen. Jahrb. f. wiss. Bot. XXIX.

Janse, I. M., Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. Ann. Jard. Bot. Buitenzorg. XIV.

Jennings, V., Note on Corallorhiza innata R. Br. and its associated Fungi. Liverpool.

1897 Dangeard et Armand. Observation de biologie cellulaire. Le Botaniste V. (Gekürzter Abdruck: Mycorrhizes d'Ophrys arachnifera. Rev. mycol. XX. 98.)

Kamerling, Z., Zur Biologie und Physiologie der Zellmembran. Vorläufige Mitteilung. Jena.

Pfeffer, Pflanzenphysiologie I.

1898 Bruchmann, H., Ueber die Prothallien und die Keimpflanzen mehrerer europäischer Lycopodien. Gotha.

Chodat und Lendner, Sur les mycorrhizes du Listera cordata. Rev. mycol. XX.

Klebs, G., Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. I. Sporodinia grandis Link. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXII.

Mac Dougal, The mycorrhiza of Aplectrum. Torr. bot. club. XXV.

1899 Bernard, Noël, Sur la germination du Neottia nidus avis. Comptes rend. CXXVIII. S. 1253—1255.

*Bernatzky, I., Beiträge zur Kenntnis der endotrophischen Mycorrhizen. Temesc. Füz. (Ungarisch und deutsch) XXII.

Hiltner, L., Ueber die Bedeutung der Wurzelknöllchen von Alnus glutinosa für die Stickstoffernährung dieser Pflanze. Landwirtsch. Versuchstat. XLVI.

Jennings and Hanna, Corallorhiza innata R. Br. and its Mycorrhiza. Sc. proc. of the roy. Dublin soc. IX.

a) Mac Dougal, D. T., Symbiotic Saprophytism. Ann. of Bot. VIII.

*b) Mac Dougal, D. T., Symbiosis and Saprophytism. Contrib. of the New York bot. garden. Nr. 1.

Nobbe und Hiltner, Die endotrophe Mycorrhiza von Podocarpus und ihre physiologische Bedeutung. Landw. Versuchsst. LI.

1900 Bernard, Noël, Sur quelques germinations difficiles. Rev. gén. Bot. XII, 108.

*Bernatzky, I., Ueber Mycorrhizengebilde. Temesc. Füz. XXIII.

Magnus, W., Studien an der endotrophen Mycorrhiza von Neottia nidus avis L. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXV. 2.

Stahl, E., Der Sinn der Mycorrhizenbildung. Eine vergleichend biologische Studie. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIV. 4.

Voechting, H., Zur Physiologie der Knollengewächse. (Studien über vicariierende Organe am Pflanzenkörper.) Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIV. 1—148.

1902 a) Bernard, Noël, Etudes sur la tuberisation. Rev. gen. Bot. XIV. pp. 5—25, 58—71, 95—119, 170—183, 219—234, 269—279.

b) Bernard, Conditions physiques sur la tuberisation chez les végétaux. C. R. Acad. d. Sc. CXXXV. S. 706—708.

Drude, O. Der herzynische Florenbezirk. Leipzig.

Malguth, R. Biologische Eigentümlichkeiten der Früchte epiphytischer Orchideen. Inaug. Diss. Breslau.

Marcuse, M. Anatomisch-biologischer Beitrag zur Mycorrhizenfrage. Inaug.-Diss. Jena.

Meyer, Arthur, Die Plasmaverbindungen und die Fusionen der Pilze der Florideenreihe. Bot. Ztg.

Shibata, K. Cytologische Studien über die endotrophe Mycorrhiza. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXVII, Heft 4.

Voechting, H. Über die Keimung der Kartoffelknollen, Experimentelle Untersuchungen. Bot. Ztg. LX.

1903 Bernard, Noël, La germination des Orchidées, C. R. Acad. Sc. CXXXVII pp. 483—485.

*Petri, L. Ricerche sul significato morfologico e fisiologico dei prosporoidi — sporangioli di Janse — nelle micorize endotrophiche. Nuovo Giornale Botanico Italiano X. S. 541—562.

1904 *Beijerink, M. W. De invloed der mikroben op de vruchtbaarheit van den grond en op den groei der hoogere planten. Landbouwkundig Tijdschrift.

a) Bernard, Noël, Recherches expérimentales sur les Orchidées. Rev. gén. d. Bot.

b) Bernard, Noël, Le champignon endophyte des Orchidées. C. R. Acad. Sc. CXXXVIII. pp. 828—830.

Bourquelot, E. Présence d'un ferment analogue à l'émulsine dans les champignons, etc. Bull. Soc. Mycol. d. Fr. 1894.

Cordemoy, H. J. de, Sur une fonction spéciale des mycorrhizes des racines latérales de la Vanille. C. R. Acad. Sc. CXXXVIII. p. 389—391.

Gallaud, I. De la place systématique des endophytes d'Orchidées. C. R. Acad. Sc. CXXXVIII. pp. 513—515.

Gallaud, I. Sur la nature des mycorrhizes endotrophiques. C. R. Soc. Biol. LVI. pp. 307—309.

Juel, H. O., Über den Pollenschlauch von Cupressus. Flora XCIII.

Magne, G. Note sur le champignon filamenteux endophyte des Orchidées. Journ. Soc. Nat. Hist. France. pp. 426—430.

Nikitinsky, Ueber die Beeinflussung der Entwicklung einiger Pilze durch ihre Stoffwechselprodukte. Jahrb. f. wiss. Bot. XL.

Ternetz, Charlotte, Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch einen torfbewohnenden Pilz. Vorl. Mitt. Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXII.

1905 Bernard, Noël, Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées. C. R. Acad. Sc. CXL. pp. 1272—1273.

Gallaud, I. Etudes sur les mycorrhizes endotrophes. Rev. gén. Bot. XVII.

Guignard, L. Quelques faits rélatifs à l'histoire de l'émulsine; existence générale de ce ferment chez les Orchidées. C. R. Acad. Sc. CXL. pp. 637—644.

1906 a) Bernard, Noël, Symbiose d'Orchidées et de divers champignons. endophytes. C. R. Acad. Sc. CXVII. pp. 52—54.

b) Bernard, Noël, Les champignons des orchidées, leur rôle et leur utilisation. Orchis I.

Elenkin, A. Die Symbiose als abstrakte Auffassung des beweglichen Gleichgewichtes der Symbionten. Bull. Jard. Bot. de St. Pétersbourg. VI. pp. 1—19. Resumé des Verf. im Bot. Centralbl. XXVIII. I. SS. 175—176.

Kuntze, G., Ueber Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung. Jahrb. f. wiss. Bot. 42.

Molz, E. Über die Bedingungen der Entstehung der durch Sclerotinia fructigena erzeugten Schwarzfäule der Äpfel. Centralbl. f. Bact. II. B. 17.

Peklo, Jaroslaw. Zur Lebensgeschichte von Neottia nidus avis Flora XCVI, 260—275.

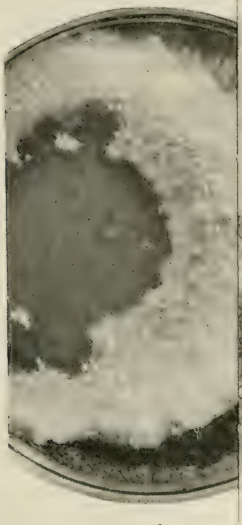
1907 Ledien, F. Die Hybridisation und die Anzucht der tropischen Orchideen aus Samen. Moellers deutsche Gärtnerzeitung.

Lüstner, G. Untersuchungen über die Peronosporeen-Epidemien der Jahre 1905 und 1906. Ber. d. Kgl. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau, in Geisenheim a. Rh. (1906).

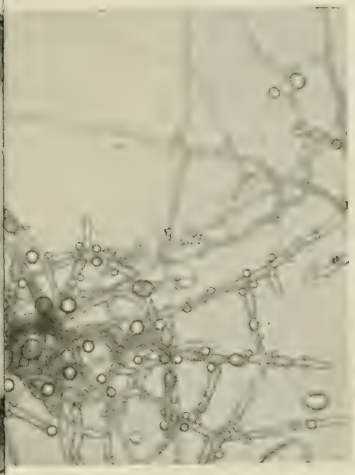
Ternetz, Charlotte, Über die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot. XLIV. S. 353—408.

1908 Bernard, Noël, La culture des Orchidées dans ses rapports avec la symbiose. Gand.

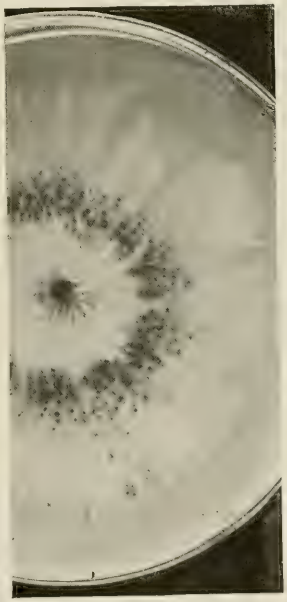
1909 Detmer, Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum. Jena.



1



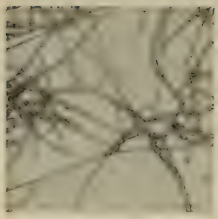
4



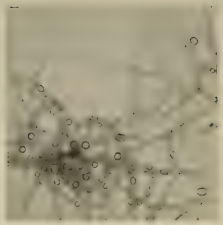
8

1

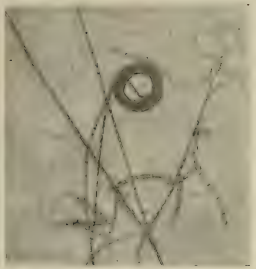
2



3

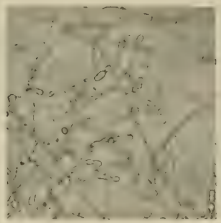


4



5

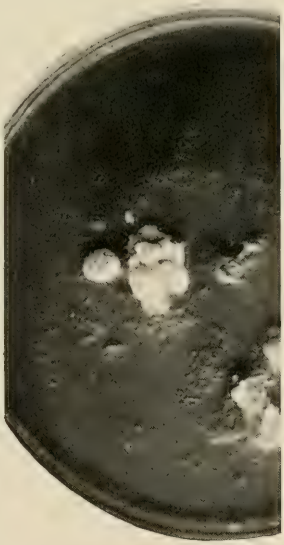
7



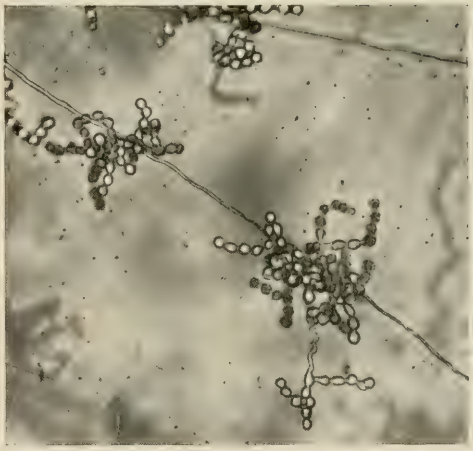
6

8

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

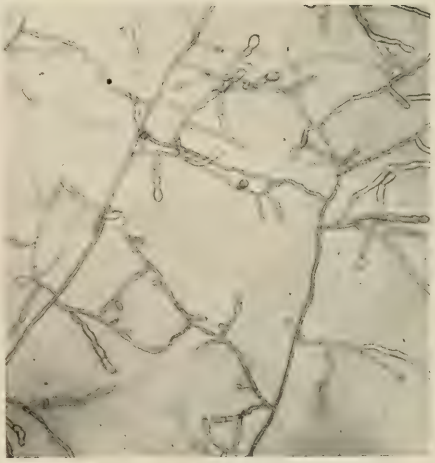


9

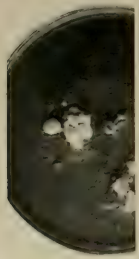


12

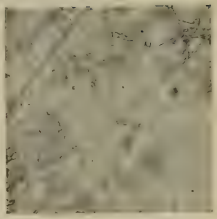
13



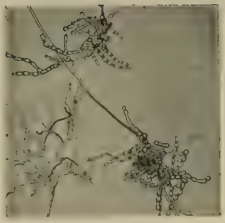
16



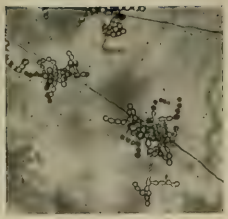
9



10



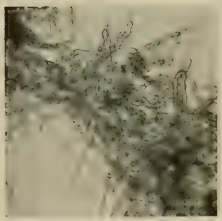
11



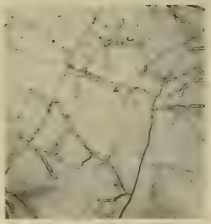
12

13

14

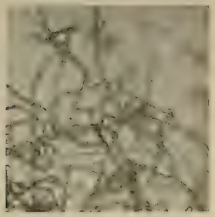


15



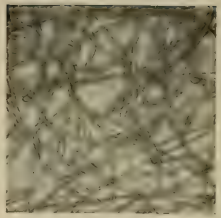
16

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

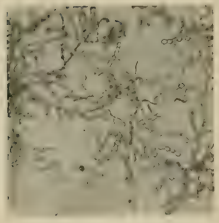


17

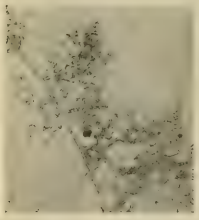
19



21



18



20

22

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Pathologische Pflanzenanatomie.

In ihren Grundzügen dargestellt. Von Dr. **Ernst Küster,** Dozent für Botanik an der Universität zu Halle a. S. Mit 121 Abbildungen im Text. 1903. Preis: 8 Mark.

Botanische Zeitung, Nr. 17 v. 1. September 1903:

Das vorliegende Buch wird jedermann zur Orientierung in dem behandelten Gebiet erwünscht und angenehm sein, weil es eine Reihe von Dingen im Zusammenhang bespricht, über die man sonst nur sehr zerstreute Einzeluntersuchungen findet und weil es eine ausgedehnte und sorgfältige Verarbeitung der einschlägigen Literatur enthält. Insofern füllt es eine Lücke aus, und kann es als ein unentbehrliches Handbuch bezeichnet werden.

Vorträge über botanische Stammesgeschichte.

Gehalten an der Reichsuniversität zu Leiden. Ein Lehrbuch der Pflanzensystematik. Von Dr. **J. P. Lotsy.** Erster Band: Algen und Pilze. Mit 430 Abbildungen im Text. 1907. Preis: 20 Mark. Zweiter Band: Cormophyta zoidogamia. Mit 553 Abbildungen im Text. 1909. Preis: 24 Mark.

Vorlesungen über Deszendenztheorien

mit besonderer Berücksichtigung der botanischen Seite der Frage, gehalten an der Reichsuniversität zu Leiden. Von Dr. **J. P. Lotsy.** Erster Teil. Mit 2 Tafeln und 124 Textfiguren. 1906. Preis: 8 Mark, geb. 9 Mark. Zweiter Teil. Mit 13 Tafeln und 101 Textfiguren. 1908. Preis: 12 Mark, geb. 13 Mark.

Naturwissenschaftliche Wochenschrift, N.-F., Bd. V. Nr. 25:

Das Buch Lotsys ist besonders verdienstlich durch die Hervorkehrung der botanischen Tatsachen. Werke, die zur Begründung deszendenztheoretischer Ansichten vorwiegend zoologische Daten benutzen, sind zahlreich, während botanische Deszendenztheorien von dem Umfang der Lotsy'schen Schrift noch nicht existieren. Der Botaniker wird dem Verfasser daher besonders Dank wissen.

Erstes mikroskopisches Praktikum.

Eine Einführung in den Gebrauch des Mikroskopes und in die Anatomie der höheren Pflanzen. Zum Gebrauche in den botanischen Laboratorien und zum Selbstunterrichte. Für Botaniker, Chemiker, Pharmazeuten, Studierende des höheren Lehramtes und Zoologen. Von Dr. **Arthur Meyer,** o. Prof. der Botanik und Pharmakognosie an der Universität Marburg. Mit 29 Abbildungen. 1908. Preis: 2 Mark 40 Pf., geb. 3 Mark.

Botanische Praktika.

II. Teil: Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Einführung in die Methoden der botanischen Untersuchung und Bestimmung der Bakterienspezies. Von Dr. **Arthur Meyer,** o. Prof. der Botanik an der Universität Marburg. Mit einer farbigen Tafel und 31 Textabbildungen. 1903. Preis 4 Mark 50 Pf., geb. 5 Mark 20 Pf.

Leuchtende Pflanzen.

Eine physiologische Studie. Von Prof. Dr. **Hans Molisch,** Direktor des Pflanzenphysiologischen Instituts der k. k. Universität Prag. Mit 2 Tafeln und 14 Textfiguren. 1904. Preis: 6 Mark.

Die Reizleitung und die reizleitenden Strukturen bei den Pflanzen.

Von Dr. **B. Nemec,** Privatdozent der Botanik an der k. k. böhmischen Univ. in Prag. Mit 3 Tafeln und 10 Textabbildungen. 1901. Preis: 7 Mark.

Morphologie und Biologie der Algen.

Von Dr. **Friedr. Oltmanns,** Prof. der Botanik a. d. Univ. Freiburg i. Br. 1904/05. Erster Band. Spezieller Teil. Mit 3 farbigen und 473 schwarzen Abbildungen im Text. Preis: 20 Mark. Zweiter Band: Allgemeiner Teil. Mit 3 Tafeln und 50 Textabbildungen. Preis: 12 Mark.

Botanische Zeitung Nr. 23 v. 1. Dez. 1904, Jahrg. 62.

Eine umfassende Darstellung der Morphologie der Algen war seit langer Zeit ein Bedürfnis. Die Literatur, deren wichtigste Erscheinungen bei jedem Kapitel in einem Anhang folgen, ist sehr vollständig zusammengetragen und durch eine Fülle von Abbildungen, unter denen eine ganze Reihe von Originalen sind, wird der Text erläutert. Die Behandlung des Stoffes ist klar und durchsichtig und das ganze Buch ist in einem frischen Ton geschrieben.

Untersuchungen über Reizerscheinungen bei den Pflanzen. Mit Berücksichtigung der Einwirkung von Gasen und der geotropischen Reizerscheinungen. Von **Warwara Polowzow.** Mit 11 Abbildungen und 12 Kurven im Text. 1908. Preis: 6 Mark.

Pflanzen-Geographie auf physiologischer Grundlage. Von Dr. **A. F. Schimper,** weil. a. o. Prof. an der Universität Bonn. Mit 502 als Tafeln oder in den Text gedruckten Abbildungen in Autotypie, 5 Tafeln in Lichtdruck und 4 geographischen Karten. Zweite unveränderte Auflage. 1908. Preis: 27 Mark, geb. 30 Mark.

Botanisches Centralblatt, Referierendes Organ der Association Internationale des Botanistes für das Gesamtgebiet der Botanik. Herausgegeben unter der Leitung des Präsidenten: Prof. Dr. **Ch. Flahault,** des Vizepräsidenten: Prof. Dr. **Th. Durand,** des Sekretärs: Dr. **J. P. Lotsy** und der Redaktions-Kommissions-Mitglieder: Prof. Dr. **Wm. Trelease,** Dr. **R. Pampanini** und Prof. Dr. **F. W. Oliver;** von zahlreichen Spezialredakteuren in den verschiedenen Ländern; Dr. **J. P. Lotsy,** Chefredakteur. Erscheint wöchentlich einmal. Abonnement für das halbe Jahr 14 Mark. Jährlich erscheinen 2 Bände und 1 Band Literatur.

Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung. Früher herausgegeben von der Königl. Bayer. Botan. Gesellschaft in Regensburg. Herausgeber Dr. **K. Goebel,** Prof. der Botanik in München. Preis pro Band (4 Hefte) 20 Mark.

Progressus rei botanicae. Fortschritte der Botanik. — Progrès de la Botanique. — Progress of Botany. Herausgegeben von der Association Internationale des Botanistes. Redigiert von Dr. **J. P. Lotsy** in Leiden.

Die „Progressus" erscheinen in zwanglosen Heften, die in Zwischenräumen von 4 Monaten zur Ausgabe kommen sollen. Die Hefte werden zu Bänden von etwa 40 Druckbogen vereinigt, so daß jährlich ein Band erscheinen wird.

Die Mitglieder der Association erhalten die Progressus zu dem Vorzugspreis von 13 Mark. Bestellungen zu diesem Vorzugspreise sind seitens der Herren Mitglieder direkt an die Verlagsbuchhandlung oder an den Generalsekretär der Association, Herrn Dr. J. P. Lotsy in Leiden, zu richten. Bestellungen, welche durch den Buchhandel aufgegeben werden (auch solche seitens der Mitglieder der Association), können nur zu dem Preise für Nichtmitglieder, welcher 18 Mark für den Band beträgt, Erledigung finden.

Zeitschrift für Botanik. Herausgegeben von **L. Jost,** Straßburg i. E., **Friedrich Oltmanns,** Freiburg i. B. und **Graf zu Solms-Laubach,** Straßburg i. E.

Den Inhalt eines Heftes eröffnen Originalarbeiten, kritische Besprechungen folgen, und eine Übersicht der neu erschienenen Literatur bildet den Abschluß eines jeden Heftes. Es ist das Bestreben der Redaktion, gute Arbeiten aus jedem Gebiete der Botanik zu veröffentlichen.

Ein besonderer Wert wird auf die Ausstattung der neuen Zeitschrift, insbesondere auf die Ausführung der für die Erläuterung des Textes erforderlichen Abbildungen, gelegt. Kann die Darstellung der Gegenstände vollkommen gut und deutlich durch Textabbildungen erzielt werden, so werden solche im Interesse der Sache vorgezogen. Ist aber die Beigabe von Tafeln erforderlich, so wird auf deren Ausführung die größte Sorgfalt verwandt.

Die neue Zeitschrift erscheint monatlich im Umfange von 4—5 Druckbogen und im Formate der amerikanischen „Botanical Gazette".

Der Abonnementspreis eines Jahrganges beträgt 24 Mark.

Weimar. — Druck von R. Wagner Sohn.

QL 66 .A1d B863
Burgeff, Hans/Die Wurzelpilze der Orchid
gen
3 5185 00058 9679